

Erlangen 1896
lie, (Wilhelm Emil) Johannes Ph.D.

Lane Medical Library

I.

Zusammenstellung der Litteratur zur Differentialdiagnose
zwischen Bact. typhi abdominal. und Bact. coli comm.

Die Hypothese der Lyoner Schule, das Bact. coli comm. sei identisch mit dem Bact. typhi abdominal. gab Veranlassung zu zahlreichen Arbeiten, die das pro und contra dieser Ansicht beweisen sollten. Wenngleich es nun Forschern, wie Rodet und Roux und anderen, gelungen ist, einzelne von den bekannten Unterscheidungsmerkmalen als nicht immer giltig zu erklären, indem das eine Bakterium durch Züchtung eine oder einige seiner differenten Eigenschaften verlor, so hat noch niemand das Bact. coli comm. in ein Bact. typhi abdominal. oder umgekehrt ein Bact. typhi abdominal. in ein Bact. coli comm. mit allen charakteristischen Eigentümlichkeiten verwandelt. Die zahlreichen Unterschiede jedoch, die man im Laufe der Zeit zwischen beiden Bakterien erkannte, rechtfertigen die Ansicht von der Identität beider Bakterien nicht.

Bevor ich auf die Besprechung der verschiedenen Unterscheidungsmerkmale eingehe, möchte ich darauf hinweisen, dass unter Bact. coli comm. jetzt keine einheitliche Art mehr zu verstehen ist, sondern dass dieser Ausdruck als Sammelname gilt für viele einander sehr ähnliche, aber nicht identische Bakterien.

Germano und Maurea¹⁾ fanden unter 100 Colikulturen ca. 30 verschiedene Species und dazu noch vielfach Übergänge von dem einen zum anderen Typus. Ebenfalls Remy und Sugg, Gilbert und Lion, Lesage und Macigne, Fremlin, Renoult, de Stoecklin und andere Forscher haben vergleichende Studien angestellt zwischen verschiedenen Colibakterien.

Die Kulturen des *Bact. typhi abdominal.* verschiedener Herkunft weisen jedoch nicht in dem Masse Verschiedenheiten auf, dass man Varietäten zulassen müsste, wie Babes es will. Die einzigen Unterschiede, die bis zu einem gewissen Grade beständig zu sein scheinen, bestehen in der mehr oder weniger üppigen Wachstumsweise und der grösseren oder geringeren pathogenen Wirkung dieses Bakteriums.

Nach vorstehenden Thatsachen dürfte es nicht mehr auffallend erscheinen, wenn bei den vergleichenden Untersuchungen des *Bact. coli comm.* und des *Typhusbacillus* betreffs des ersteren von vielen Forschern verschiedene, sich scheinbar widerstreitende Angaben gemacht worden sind.

Die zahlreichen differentialdiagnostischen Untersuchungen beider Bakterien lassen sich vorteilhaft unter folgende Versuchsreihen ordnen:

- I. Reihe: Mikroskopische Untersuchung der Bakterien im hängenden Tropfen und gefärbten Präparate.
- II. Reihe: Makroskopische Untersuchung der Kulturen verschiedener Nährböden.
- III. Reihe: Mikroskopische Untersuchung der Kulturen geeigneter Nährböden.

¹⁾ E. Germano u. G. Maurea: Ziegler's Beiträge zur pathol. Anatomie und allgem. Pathologie Bd. XII Heft 3 S. 494.

IV. Reihe: Beobachtung der chemischen Zersetzung und Reaktionsveränderung verschieden zubereiteter Nährböden, bewirkt durch das Wachstum der Bakterien.

V. Reihe: Nachweis bestimmter, durch die Bakterien in den Nährböden gebildeten chemischen Verbindungen durch chemische Reaktionen.

I. Reihe:

Mikroskopische Untersuchung der Bakterien im hängenden Tropfen und gefärbten Präparate.

In der Form der Bakterien selbst sind keine feststehenden Unterschiede zu bemerken. Beide, *Bact. typhi abdominal.*, sowie *Bact. coli comm.*, bilden kurze, plumpe Stäbchen mit abgerundeten Enden, beide werden bei der Färbung nach Gram entfärbt und beide bilden keine Sporen. Betreffs der Beweglichkeit, Anzahl und Form der Geisseln jedoch wurden bald charakteristische Unterschiede angegeben. — Dem *Bact. coli comm.*, welches man früher vielfach für völlig unbeweglich ansah, ist später eine Beweglichkeit zuerkannt worden, die jedoch stets von der Motilität des *Typhusbacillus* zu unterscheiden sein sollte. — L. Remy und E. Sugg¹⁾ fanden bei dem *Bact. coli comm.* etwas lebhaftere Bewegung in Bouillonkulturen mit Zusatz von Kaliumdichromat (1:6000), sowie überhaupt mit Zusatz von geringen Mengen von

¹⁾ L. Remy et E. Sugg: Recherches sur le bacille d'Eberth-Gaffky. Caractères distinctifs du bacille de la fièvre typhoïde. Procédés pour le retrouver dans les eaux potables. Première partie: Du diagnostic du bacille d'Eberth-Gaffky et des caractères le distinguant des microorganismes pseudotypiques.

(Travaux du laboratoire d'Hygiène et de Bactériologie de l'université de Gand. Vol. I. 1893, Heft 2.)

Antisepticiis. — Terno¹⁾ erkannte als Optimum für die Beweglichkeit des Typhusbacillus einen Nährboden, der aus peptonfreier Bouillon mit 3% Glycerin besteht und entsprechend 0,01% Salzsäure natursauer ist. In diesem Substrate soll der Typhusbacillus acht Tage und länger beweglich bleiben, während er in 1% Peptonbouillon schon nach 72 Stunden seine Motilität einbüsst, in welcher Zeit er aber in diesem Nährboden sehr lebhaft beweglich sein soll. Terno beschreibt als speciell für den Typhusbacillus charakteristisch die Art und Weise der Bewegung: Er beobachtet ein schnelles Dahinziehen der Bakterien in langen Reihen parallel dem Rande des Tropfens und vergleicht ihre Bewegung mit dem Zuge der Ameisen. Die Temperatur soll jedoch nicht unter $+ 12^{\circ}$ C. sinken, wenn man die Bewegung beobachten will.

Einflüsse, welche die Motilität des Typhusbacillus bis zur Vernichtung herabsetzen können, sind, wie Terno angiebt, was das Substrat angeht: zu langes Kochen der Bouillon, wodurch die gelösten albuminoiden Substanzen verändert werden; Gehalt an Pepton über 3%, an Glykose, Laktose, Liebig's und Kemmerich's Fleischextrakt; Verwandlung der Zuckersubstanzen der Bouillon in Karamel; zu hoher Gehalt an natürlicher Säure oder zu starke Alkalescentz.

In klarem Quell-, Fluss- und Meerwasser soll der Typhusbacillus unbeweglich sein. Die Menge der organischen Substanz muss mindestens einer Oxydierbarkeit des Wassers von 0,01% Sauerstoff entsprechen, wenn Bewegung beobachtet wird. Hat der Typhusbacillus seine Beweglichkeit verloren, so erlangt er dieselbe unter günstigen Bedingungen in charakteristischer Weise sofort wieder. — Das Bact. coli comm. und die

¹⁾ Camillo Terno: La diagnose differenziale del bacillo de tifo. (Annali dell' Istituto d' Igiene sperimentale della R. università di Roma. Vol. III. N. S. fasc. 3.).

von Terno studierten typhusähnlichen Bakterien sind aber in sauren Nährböden unbeweglich und besitzen überhaupt einen anderen Bewegungsmodus als der Typhusbacillus. — In letzter Zeit jedoch wurden zuweilen Colibakterien beobachtet, die eine sehr lebhafte Beweglichkeit zeigten und sich durch diese nicht mehr von dem Typhusbacillus unterscheiden liessen. Es ist daher der Unterschied in der Beweglichkeit beider Bakterien keineswegs als ein unbedingt sicherer anzusehen.

Entsprechend der Beweglichkeit suchte man auch die Zahl und die Art der Geisseln für die Differentialdiagnose zwischen beiden Bakterien verwertbar zu machen. — Luksch¹⁾ war der Erste, der diesbezügliche Mitteilungen machte. Er fand bei dem *Bact. coli comm.* nur 1 bis höchstens 3 Geisseln, beim Typhusbacillus dagegen 8 bis 12 derselben. Verfasser hielt seinen Befund für die Trennung der beiden Bakterien für wohl geeignet. — Luksch verwendete zur Darstellung der Geisseln eine frisch bereitete, kalt gesättigte Lösung von Ferriacetat und bereitete die Beize nach Angaben Löffler's. Zweckmässig erschien ihm ein Zusatz von 5 bis 6 Tropfen Essigsäure zu 16 ccm der Beize.

Die Beobachtung von Luksch fand Bestätigung durch Fremlin²⁾, wie ebenfalls in gewissen Grenzen von Remy und Sugg³⁾. Letztere fanden zwar, dass die Zahl der Geisseln bei dem *Bact. coli comm.* verschiedener Herkunft eine wechselnde (meist 4 bis 6), aber stets geringer als beim Typhusbacillus war, bei dem die Zahl und Anordnung der Geisseln selbst bei Kulturen verschiedenster Provenienz eine ziemlich kon-

¹⁾ Luksch: Centralblatt f. Bakteriologie Bd. XII. S. 427 — 1892. —

²⁾ Fremlin: Archiv f. Hyg. Bd. 19.

³⁾ L. Remy et E. Sugg: Travaux du laboratoire d'Hygiène et de Bacteriologie de l'université de Gand Vol. I. Hft. 2. — 1893. —

stante blieb. Für das *Bact. coli comm.* schienen ihnen auch die feinen und ziemlich kurzen Geisseln charakteristisch zu sein. — Remy und Sugg verwendeten die Loeffler'sche Beize, die sie $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{2}$ Stunde in der Kälte einwirken liessen. Zum Nachfärben der Präparate bedienten sie sich einer schwachen Anilinwasser-Gentianaviolettlösung.

Weitere Untersuchungen der Geisselfäden beider Bakterien von Ferrati¹⁾, Nicolle und Morax²⁾, Moore³⁾, und Bunge⁴⁾ ergaben jedoch, dass der von Luksch zuerst angegebene Unterschied zur Differentialdiagnose nicht verwertet werden dürfte.

Ferrati machte zuerst darauf aufmerksam, dass der *Typhusbacillus* und das *Bact. coli comm.* in der Zahl der Geisseln keine prägnanten Unterschiede aufzuweisen hätten. — Die Untersuchung von Nicolle und Morax zeigten ähnliche Resultate. Es wurde von ihnen bei *Bact. coli comm.* 6 bis 10 und bei dem *Typhusbacillus* 10 bis 12 Geisseln gefunden. — Moore beobachtete, dass bei dem *Bact. coli comm.* zwar Organismen mit einer Anzahl bis zu 4 Geisseln in der bedeutenden Mehrheit sind, dass aber auch solche mit 5 bis 7 Geisseln vorkommen. Bei dem *Typhusbacillus* fand er eine höhere Zahl der Geisseln etwas prävalierend, im übrigen aber die gleichen Verhältnisse. Als Durchschnittszahlen der Geisseln werden von ihm pro Keim

¹⁾ Ferrati: Archiv f. Hyg. Bd. 16.

²⁾ Nicolle et Morax: Annales de l'Institut Pasteur. T. VII. Nr. 7. — 1893. —

³⁾ Moore: The character of the flagella on the *Bac. cholerae* suis (Salmon and Smith), *Bact. coli comm.* (Escherich) and the *Bac. typhi abdominal.* (Eberth). — (The Wilder Quarter-Century Book. Comstock Publishing Co. Ithaca. N. G.)

⁴⁾ R. Bunge: Zur Kenntnis der geisseltragenden Bakterien. (Fortschritte der Medicin. Bd. XII. S. 653 und 929. — 1894. —)

nach je 200 Exemplaren gerechnet, für das *Bact. coli comm.* 2,6 und 1,8, für den *Typhusbacillus* 3,5 und 2,6 angegeben.

Besonders ist es dann Bunge, der den Unterschied betreffs Bildung von Geisseln auf Grund seiner Untersuchungen völlig verwirft. Bunge verwendet zur Untersuchung ein aus einer Gasphlegmone gezüchtetes *Bact. coli comm.*, ein solches in einem Ovarialabzess gefundenes und ein *Bact. coli comm.* aus einem menschlichen Stuhle, ferner eine Typhuskultur und führt die Geisselfärbung nach der von ihm in der zitierten Arbeit angegebenen Methode mit einer aus Ferrichlorid dargestellten Beize aus, mit der er beim Färben der Typhus- und Colonbacillen keine Schwierigkeiten beobachtet. Seine Resultate stellt Bunge in Tabellen übersichtlich zusammen. Aus diesen geht hervor, dass auch bei seinen Untersuchungen im allgemeinen eine geringere Anzahl Geisseln bei dem *Bact. coli comm.* vorherrscht als beim *Typhusbacillus*; jedoch fand Bunge Colonbacillen mit 12 bis 16 und je einen mit 17 und 20 Geisseln. Bei einem Präparate des aus menschlichem Stuhle gezüchteten *Bact. coli comm.* prävalierten an bestimmten Stellen in ganz auffälliger Weise Organismen mit 11 bis 20 Geisseln. Nach früheren Angaben wäre also hiernach die Diagnose für den *Typhusbacillus* berechtigt gewesen, während es sich sicher um *Bact. coli comm.* handelte.

Ferner machte de Stoecklin¹⁾ Angaben über die Geisselfärbung der Bakterien betreffs Differentialdiagnose zwischen dem Colon- und *Typhusbacillus*. De Stoecklin führte die Geisselfärbung genau nach den Angaben Loeffler's aus, d. h. mit Zusatz einer bestimmten Anzahl

¹⁾ de Stoecklin: Recherches sur la mobilité et les cils de quelques représentants du groupe des Coli-Bacilles. (Annales suisses des sciences médicales. Serie I. livraison 6. — 1894. —)

Tropfen Alkali beziehungsweise Säure und schliesst aus der verschiedenen Anzahl Tropfen Alkali oder Säure, die zur Darstellung der Geisseln nötig sind, auf die Verschiedenheit der Organismen. Diese Methode der Differentialdiagnose dürfte jedoch, wie schon Bunge betont, gar keinen Wert haben, abgesehen davon, dass die Resultate de Stoecklin's mit denen anderer Forscher nicht immer übereinstimmen. Der Befund des Verfassers, dass man zur Geisselfärbung der Bakterien verschiedene Anzahl Tropfen Säure oder Alkali gebraucht, kann von sehr vielen Zufälligkeiten abhängen, die gar nicht alle aufzuzählen sind.

II. Reihe:

Makroskopische Untersuchung der Kulturen verschiedener Nährböden.

1. Beobachtung der Gelatinekulturen.

Wie Ferrati¹⁾ bereits angiebt, wächst das *Bact. coli* comm. bei Zimmertemperatur weit rascher als der *Typhusbacillus*; nach 24 Stunden kann man mit unbewaffnetem Auge bereits deutliche Kolonien sehen, während solche in den Platten mit Typhuskulturen erst am dritten Tage zu erkennen sind. Hierbei ist jedoch zu berücksichtigen, dass viele Umstände, wie die Reaktion und die Zubereitung des Nährbodens, ebenso die Temperatur und die Herkunft der Kultur auf den an und für sich immerhin nicht so wesentlichen Unterschied im Wachstum erheblichen Einfluss haben. Die Gelatinekulturen des *Typhusbacillus* verbreiten in der Regel keinen besonderen Geruch, während solche vom *Bact. coli* comm. sehr übel riechen.

Fremlin²⁾ unterscheidet 2 Varietäten des *Bact. coli*

¹⁾ Ferrati: Archiv f. Hyg. Bd. XVI. S. 2. — 1893. —

²⁾ Fremlin: Vergleichende Studien an *Bact. coli* comm. verschiedener Provenienz. (Archiv f. Hyg. Bd. 19. 3. — 1893. —)

comm., die eine bildet auf Gelatine Häutchen, die andere Pünktchen ohne Verflüssigung des Nährbodens. Bei der Untersuchung eines menschlichen Stuhles beobachtete auch ich die Varietät, welche erhabene Pünktchen bildet und zwar diese ausschliesslich, konstatirte jedoch durch Überimpfen, dass diese Varietät in die gewöhnliche — Bildung einer transparenten Haut — überging. Dieselbe Erscheinung trat auch bei einer Typhuskultur auf. Erwähnt sei hier, dass die punktförmigen Kolonien bei der mikroskopischen Betrachtung kreisrund erschienen und die Struktur concentrische Kreise oft deutlich erkennen liess.

2. Untersuchung der Kartoffelkulturen.

Lange Zeit hindurch wurde das von Gaffky¹⁾ zuerst beobachtete charakteristische Wachstum auf der Kartoffel für das sicherste Kriterium zur Erkennung des Typhusbacillus gehalten.²⁾ Bact. coli comm., sowie alle andern ähnlichen Bakterien sollten sich in auffallender Weise hierin vom Typhusbacillus unterscheiden. Dieses typische Wachstum der Typhusbacillen beschreibt Gaffky wie folgt: Die geimpften Kartoffelflächen lassen „im Laufe der folgenden Tage für das blosse Auge nur sehr geringe Veränderungen erkennen. Die besäeten Flächen scheinen wohl ein etwas gleichmässigeres und feuchteres Aussehen anzunehmen; doch sieht man makroskopisch von einem Wachstum nichts. Versucht man aber — etwa nach 48 Stunden — mit der Platinnadel von der Oberfläche eine geringe Menge zur mikroskopischen Untersuchung zu entnehmen, so erhält man den Eindruck, als ob die ganze Fläche

¹⁾ Gaffky: Mitteil. a. d. Kaiserl. Ges.-Amte Bd. II. S. 388. — 1884. —

²⁾ Vergleiche: Seitz: Studien zur Typhusaetiologie S. 32. — 1886. —, Flügge: Die Mikroorganismen S. 202. — 1886. — u. a. m.

in eine zusammenhängende resistenterere Haut verwandelt wäre, ohne dass sich von Eintrocknung auch nur eine Spur wahrnehmen liesse. Von welcher Stelle der Oberfläche man aber auch ein minimales Kartoffelstückchen entnehmen mag, überall, auch an den nicht besäeten Partien, findet man bei der mikroskopischen Untersuchung in ganz überraschenden Mengen die verimpften Bacillen, meist von der gewöhnlichen Länge, zum Teil aber auch in Form längerer Scheinfäden. Die ganze Oberfläche scheint fast nur aus den Bacillen zu bestehen.“ Das *Bact. coli comm.* bildet dahingegen im allgemeinen dicke saftige Ausbreitungen von gelblicher oder gelblichbrauner Farbe.

Allein dieses für die Differentialdiagnose seiner Zeit für so ausserordentlich wertvoll gehaltene Unterscheidungsmerkmal wurde später als nicht immer typisch erkannt. Zuerst beobachtete Eisenberg¹⁾ „atypische“ Kulturen des Typhusbacillus auf vorher alkalisirten Kartoffeln. Dann machten E. Fraenkel und Simmonds²⁾ darauf aufmerksam, dass Typhusbacillen auf Kartoffeln, welche nicht die normale leicht saure Reaktion zeigten, deutlich erkennbare, schmierige Belege bildeten. Auch Schiller³⁾ untersuchte eingehend das Wachstum der Typhusbacillen auf Kartoffeln und fand, dass die Typhuskulturen auf alkalischen Kartoffeln entschieden üppiger wuchsen. Die Oberfläche solcher Kartoffeln war mit einem grauweissen Rasen bedeckt, der zuweilen auch eine gelbliche bis gelbbraunliche Farbe annahm.

Ali-Cohen⁴⁾ unterschied auf Grund seiner Unter-

¹⁾ Eisenberg: Bakteriologische Diagnostik. — 1886. —

²⁾ E. Fraenkel u. Simmonds: Die aetiologische Bedeutung des Typhusbacillus. — 1886. —

³⁾ Schiller: Beitrag zum Wachstum der Typhusbacillen auf Kartoffeln. (Arbeiten a. d. Kaiserl. Ges.-Amte Bd. V. S. 315.)

⁴⁾ Ali-Cohen: De Typhus-Bacill. Een experimenteel en krit. onderzoek. — 1888. —

suchungen ein vierfaches Wachstum der Typhusbacillen auf Kartoffeln und zwar:

1. makroskopisch unsichtbares Wachstum über die ganze Oberfläche,
2. makroskopisch sichtbares Wachstum über die ganze Oberfläche,
3. makroskopisch sichtbares Wachstum auf das Centrum eingeschränkt,
4. makroskopisch sichtbares Wachstum auf das Centrum eingeschränkt mit unsichtbarer Ausstreuung der Kolonien in der Peripherie.

Von diesen vier Wachstumsmodi will Ali-Cohen nur den sub 1 angegebenen als typisch und absolut charakteristisch gelten lassen; alle anderen Modifikationen seien keineswegs dem Typhusbacillus allein eigentümlich. Den Grund für das verschiedenartige Wachstum sucht Ali-Cohen nicht, wie Eisenberg und Fraenkel und Simmonds es thun, in den Aenderungen des Nährsubstrates, sondern in den Bacillen selbst. — Germano und Maurea¹⁾ teilen mit, dass das von Gaffky als typisch beschriebene Wachstum der Typhusbacillen auf Kartoffeln nicht immer verwertbar sei, da es an mehreren Orten, z. B. in Neapel, niemals zur Beobachtung käme.

Belfanti²⁾ wies nach, dass auch die Temperatur für das Zustandekommen des typischen Wachstums der Typhusbacillen von Wichtigkeit sei. Kulturen, die bei Bruttemperatur einen lackartigen Ueberzug bildeten, zeigten bei Zimmertemperatur oder bei noch niedrigeren Graden auf denselben Kartoffeln gezüchtet das glänzende, farblose, charakteristische Aussehen.

¹⁾ Germano u. Maurea: Ziegler's Beiträge zur pathol. Anatomie und allgem. Pathologie Bd. XII. Heft 3, S. 494.

²⁾ Belfanti: Sulla infezione tifosa. — 1890 —

Buchner¹⁾ und Karlinski²⁾ fanden typhusähnliche Bakterien, die unter gewissen Bedingungen ebenfalls das für die Typhusbakterien charakteristische Wachstum auf Kartoffeln zeigten. Arloing³⁾ wies nach, dass alte Bouillonkulturen von *Bact. coli comm.* auf Kartoffeln auch in der für Typhusbacillen bekannten Weise wachsen könnten.

Fassen wir jetzt die Angaben der verschiedenen Forscher kurz zusammen, so kommen wir zu folgendem Resultate:

1. Liefert ein Bakterium auf der Kartoffel Gaffky's „unsichtbare Kolonie“, so darf dasselbe, wenn noch mehr Identitätsbeweise für den Typhusbacillus geliefert werden können, ebenfalls als ein solcher angesehen werden.
2. Tritt die Erscheinung der „unsichtbaren Kolonie“ auf der Kartoffel bei einem Bakterium nicht auf, das auf Grund anderer Untersuchungen sicher als Typhusbacillus angesprochen werden müsste, so ist die Identität mit dem letzteren deshalb nicht anzuzweifeln.
3. Zeigt ein Bakterium die „unsichtbare Kolonie“ auf der Kartoffel, ist für die Identität mit dem Typhusbacillus aber kein weiterer sicherer Beweis zu liefern, so darf dieser Bacillus nie für ein *Bact. typhi abdominal.* gehalten werden.
4. Am besten führt man den Kulturversuch auf einer Kartoffel von der normalen, leicht sauren Reaktion aus und stellt ihn in paralleler Weise mit einer sicheren Reinkultur des Typhusbacillus und mit dem verdächtigen Bakterium an.

¹⁾ Buchner: Centralblatt f. Bakt. Bd. IV. S. 356.

²⁾ Karlinski: Wiener med. Wochenschrift 1891, No. 11 u. 12.

³⁾ Arloing: Centralblatt f. Bakt. Bd. XI. S. 120. — 1892. —

Dabei ist zu berücksichtigen, dass Alkaleszenz der Kartoffel den Wert der letzteren für die Diagnose herabsetzt.

Erwähnt sei hier auch die Holz'sche Kartoffelgelatine¹⁾, dargestellt aus dem filtrierten Saft zerriebener Kartoffeln, von der 10,0 Gramm 2,4 bis 3,2 cem $\frac{1}{10}$ Normal-Alkali zur Sättigung gebrauchen. Holz beschreibt ein charakteristisches Wachstum der Typhusbacillen auf dieser Gelatine. Die Oberflächenansiedelungen sind ganz klar und durchsichtig, „wie auf die Gelatine gehaucht“. Jaeger²⁾ hat jedoch ein ganz gleiches Wachstum bei einem Bakterium beobachtet, welches sicher kein Typhusbacillus war.

3. Beobachtung des Wachstums in Kokosmilch.

Daválas³⁾ verwendet zur Unterscheidung des Typhusbacillus vom Bact. coli comm. die schon von Sternberg in die Bakteriologie eingeführte Kokosmilch als Nährboden. Daválas führt seine Versuche im Sommer bei der Aussentemperatur von ca. 30° C. und bei 37° C. Bruttemperatur aus. Die Menge und Form des Bodensatzes, der sich nach 48 Stunden gebildet hat, sowie die Gestalt und Grössenverhältnisse der beiden Mikroorganismen sollen hinreichende Anhaltspunkte geben. In den in Reagensgläsern befindlichen Typhuskulturen ist nach 24 Stunden die Flüssigkeit gleichmässig milchig getrübt. Beim Schütteln senkt sich ein feines, weisses Pulver nieder. Nach weiteren 24 Stunden hat sich am Boden ein schmutzigweisser Satz gebildet, der den grössten Teil der Konkavität des Reagensglases wie mit

¹⁾ Max Holz: Zeitschrift f. Hyg. Bd. VIII. S. 143.

²⁾ Jaeger: Zeitschrift f. Hyg. Bd. X. S. 217.

³⁾ Daválas: Contribución al estudio del agua de coco como medio de cultivo de diferentes gérmenes patógenos. (Cronica médico-quirúrgica de la Habana 1892. No. 11.)

einer dünnen Schicht überzieht. Bei den in gleicher Weise angelegten Kulturen vom *Bact. coli comm.* wurde stets nur ein kleiner linsengrosser Bodensatz gefunden, derselbe war scharfrandig, etwas strohgelb und erst nach 48 Stunden der Aussaat bemerkbar.

Daválas untersuchte die Bakterien solcher Kokosmilchkulturen auch im gefärbten Präparate und fand auch hier charakteristische Verschiedenheiten. Die Typhusbacillen erschienen als vereinzelte Stäbchen mit abgerundeten Enden und hellen Zwischenräumen an beiden oder nur an einem Ende. Im Niederschlage wurden auch längere Verbände gefunden, die den Streptokokken ähnlich sehen sollen. Die mittlere Länge der einzelnen Stäbchen war $3,9 \mu$ bei einer Dicke von $1,08 \mu$, wogegen die Filamente bei gleicher Dicke $15,20 \mu$ und länger waren. Die Colibacillen der Kokosmilchkulturen waren verschieden lang. Bald waren sie mit länglichen Mikrokokken zu vergleichen, bald hatten sie eine Länge von $2,3 \mu$ bei einer Dicke von $1,6 \mu$. Auch sie zeigten einen hellen Fleck in der Mitte oder an den Enden. Untersuchte der Verfasser den Niederschlag der Colibakterienkulturen erst 3 bis 4 Tage nach der Aussaat, so fand er gleichförmig die Gestalt kurzer Stäbchen mit einem hellen Punkte in der Mitte. Die Bacillen boten ihm so das Aussehen von Diplokokken dar. Längere Formen, sowie kurze Fädchen traten nur spärlich auf.

4. Wachstum der Kulturen in mit Formalin versetzten Nährböden.

Schild¹⁾ hatte die Beobachtung gemacht, dass das *Bact. coli comm.*, sowie ein anderes ganz ähnliches Wasserbakterium eine ungleich höhere Widerstandsfähigkeit gegen Formalineinwirkung besitzen, als der Typhus-

¹⁾ Schild: Zeitschrift f. Hyg. u. Infektionskrankheiten Bd. XVI. — 1894. —

bacillus und versuchte diese Eigenschaft für die Differentialdiagnose verwertbar zu machen. Bei der Prüfung des Formalinzusatzes zur neutralen Nährbouillon erkannte Schild, dass das Wachstum der Typhusbacillen (3 verschiedener Stämme) bei einem Formalingehalte von 1:15000 (40% Formalinlösung in Wasser) völlig ausblieb, während das Bact. coli comm. (6 verschiedene Rassen) sich noch bei einem Formalingehalte von 1:3000 kräftig entwickelte und das Wasserbakterium noch bei einem Formalinzusatze von 1:6000.

Schild stellte sich eine Formalingelatine 1:13000 dar (Formalin ist nach der Sterilisation zuzusetzen, da es sonst verdampft); in derselben wachsen das Bact. coli comm. und das von ihm untersuchte typhusähnliche Wasserbakterium, aber nicht der Typhusbacillus. In gleicher Weise trat Wachstum ein in Formalinbouillon.

Schild zieht nun aus seinen Untersuchungen folgende Schlüsse:

1. Stammt die zu prüfende Reinkultur aus Dejectionen Typhuskranker, so ist ein wiederholtes Klarbleiben der Formalinbouillon entscheidend für Typhus, eine Trübung für Bact. coli comm.
2. Stammt die Kultur aus dem Wasser, so ist zwar das Klarbleiben nicht für Typhus entscheidend, weil vielleicht andere ähnliche Wasserbakterien ebenfalls nicht darin gedeihen, wohl aber ist eine Trübung entscheidend gegen Typhus.

Abel¹⁾ kontrollierte die Angaben Schild's betreffs des Bact. coli comm. und des Typhusbacillus und prüfte noch eine grosse Anzahl anderer typhusähnlicher Bakterien auf ihre Empfindlichkeit gegen Formalin. Seine

¹⁾ Rudolf Abel: Ueber die Brauchbarkeit der von Schild angegebenen Formalinprobe zur Differentialdiagnose des Typhusbacillus. (Centralblatt f. Bact. Bd. XVI. S. 1041. — 1894. —)

Resultate stimmen jedoch mit den von Schild angegebenen nicht völlig überein. Auch bei Abel's Versuchen stellte sich zunächst ein Unterschied in dem Verhalten des *Bact. coli comm.* und des *Typhusbacillus* heraus. Das *Bact. coli comm.* zeigte schon nach 9 bis 12 Stunden eine starke Vermehrung in den Röhrchen mit 1:3000 Formalin und darunter; nach 24 Stunden waren meist, nicht immer, auch die Eprovetten mit einem Gehalte von 1:2000 Formalin stark getrübt. Der *Typhusbacillus* dagegen zeigte nach 12 Stunden gewöhnlich nur eine Trübung in den Röhrchen mit 1:15000 und 1:12000, bisweilen auch schon in 1:10000. Nach 24 Stunden waren die Röhrchen mit 1:10000 jedoch auch deutlich trübe. Nach 24 bis 48 Stunden trat sogar Wachstum in 1:7000 ein und nach 3 bis 4 Tagen war 1:5000 und selbst 1:3000 deutlich getrübt. Nach Abel's Versuchen hörte also nicht, wie Schild angegeben hatte, bei höherem Formalingehalte das Wachstum des *Typhusbacillus* völlig auf, sondern es ging nur verlangsamt vor sich. Von wesentlichem Einflusse erwies sich bei Abel's Untersuchungen die Menge des in die Röhrchen eingeführten Kulturmaterials. Die oben erwähnten Wachstumsdifferenzen zwischen *Bact. coli comm.* und dem *Bact. typhi abdominal.* zeigten sich am deutlichsten, wenn nur eine Oese oder eine Nadelspitze Bouillonkultur zur Aussaat benutzt worden war. Worin die Verschiedenheiten der Angaben von Schild und Abel ihren Grund haben, bedarf noch der Aufklärung.

Unter den 15 typhusähnlichen Bakterien, die Abel untersuchte, befanden sich einige, deren Verhalten Formalin gegenüber ganz gleich dem des *Bact. coli comm.* war. Andere aber waren empfindlicher und näherten sich in ihrem Wachstum in Formalinbouillon dem *Typhusbacillus*. Andere wieder zeigten eine ganz gleiche Empfindlichkeit wie der *Typhusbacillus* gegen den Einfluss des Formalins im Nährboden. Schliesslich fanden

sich auch Kulturen, deren Wachstum durch einen Formalingehalt, den der Typhusbacillus leicht überwand, mehrere Tage hintangehalten wurde.

Abel zieht nun aus den Resultaten seiner Untersuchungen folgende Schlussfolgerungen:

1. Die Differenzen im Verhalten des Typhusbacillus und des Bact. coli comm. gegen Formalinbouillon sind so beträchtliche, dass die Formalinprobe wohl mit herangezogen werden kann, wo es sich um eine Unterscheidung beider Arten handelt. Bei diesen Versuchen müsste natürlich die Voraussetzung sein, dass man es sicher mit Bact. coli comm. oder Bact. typhi abdominal. und mit keinem anderen Organismus zu thun hat.
2. Man kann nach dem Ausfall der Formalinprobe nur schliessen, dass diejenigen typhusverdächtigen Organismen, die bei so hoher Concentration wie das Bact. coli comm. ungehindert gedeihen, sicher keine Typhusbacillen sind, aber nicht den umgekehrten Schluss ziehen, dass typhusähnliche Organismen, die sich in Formalinbouillon wie echte Typhusbacillen verhalten, nun auch wirklich echte Typhusbacillen sind.

5. Beobachtung der Kulturen auf gefärbten Nährböden.

J. Gasser¹⁾, Max Holz²⁾, Luksch³⁾ und Grancher und Deschampes⁴⁾ untersuchten das Wachstum der Typhusbacillen und ähnlicher Bakterien in gefärbten

¹⁾ J. Gasser: Sur un nouveau procédé de diagnostic différentiel du bacille d'Eberth. (La Semaine méd. No. 31. — 1890. —)

²⁾ Max Holz: Centralblatt f. Bakt. Bd. IX. S. 293.

³⁾ Luksch: Centralblatt f. Bakt. Bd. XII. S. 428.

⁴⁾ Grancher und Deschampes: Centralblatt f. Bakt. Bd. V. S. 830.

Nährböden. Sie verwendeten zum Färben einmal die Noeggerath'sche Lösung¹⁾, sowie einzelne Komponenten derselben. Uffelmann²⁾, Dunbar³⁾ und Köhler⁴⁾ prüften auch mit Methylviolett gefärbte Nährböden. Die teilweise nicht übereinstimmenden Angaben dieser Untersuchungen haben wahrscheinlich ihren Grund, wie auch Luksch annimmt, in der chemisch so mannigfachen und leider auch wechselnden Zusammensetzung der verwendeten Nährböden (Agar-Agar und Gelatine). Es ist auch sicher anzunehmen, dass schon die chemische Zersetzung des Nährbodens auf die Farbstoffe einwirkt.

Luksch beobachtete, dass steriler Fuchsinagar schon im Brutschranke eine Veränderung der Färbung zeigte und bei längerem Verweilen daselbst völlig entfärbt wurde.

Als charakteristisches Wachstum des Typhusbacillus, des Bact. coli comm. und der typhusähnlichen Bakterien auf gefärbten Nährböden wird besonders die verschiedene Affinität der einzelnen Bakterien für die Farbstoffe angegeben. Diese Unterschiede sind jedoch für den Typhusbacillus und das Bact. coli comm. oft so geringfügig, dass sie bei der Differentialdiagnose dieser beiden Bakterien keine sicheren Resultate geben können.

Erwähnt sei, dass Uffelmann, wie auch verschiedene andere Autoren, verschieden gefärbte Nährböden, besonders nach Zusatz kleiner Mengen anorganischer oder organischer Säuren zur Trennung der Typhusbacillen aus Bakteriengemischen empfiehlt auf Grund der entwicklungshemmenden Eigenschaften, die diese Nährböden den meisten anderen Bakterien gegenüber erkennen lassen. Die

¹⁾ Noeggerath: Centralblatt f. Bact. Bd. III. S. 481. — 1888.

²⁾ Uffelmann: Berl. klin. Wochenschrift 1891 No. 35 und Centralblatt f. Bakt. Bd. XV. S. 133. 1894.

³⁾ Dunbar: Zeitschrift f. Hyg. Bd. XII. S. 485.

⁴⁾ Köhler: Zeitschrift f. Hyg. Bd. XIII. S. 54.

Betrachtung dieser Methoden gehört jedoch nicht in den Rahmen dieser Abhandlung.

In der letzten Zeit hat Marpmann¹⁾ Versuche angestellt mit reduzierten Farbstoffen als Zusatz zu Nährböden und gefunden, dass derartig präparierte Nährböden für die Diagnose verwertbar sind. Zum Vergleiche bediente sich Marpmann schwarz gefärbter Nährböden. Zur ersten Versuchsreihe benutzte er entfärbten Fuchsinagar, resp. Gelatine, nach folgender Vorschrift:

„1 Teil Fuchsin wird in 100 Teilen Wasser gelöst, mit konz. Natriumbisulfitlösung entfärbt und die farblose Lösung zu 2 % den gewöhnlichen Agar- oder Gelatine-lösungen zugemischt, in Reagensgläser gefüllt und sterilisiert.“ Zur 2. Reihe wurde Agar mit Malachitgrün und Natriumbisulfit in derselben Weise behandelt, wie beim Fuchsin. Zur Darstellung der schwarzen Nährböden benutzte Marpmann Indolin und Nigrosin.

Am besten soll sich zur Differentialdiagnose des Typhusbacillus und des Bact. coli comm. der Malachitgrün-Sulfit-Agar eignen. Bact. typhi abdominal. soll einen dunkelgrünen Belag bilden, während Bact. coli comm. als grauweißer Ueberzug erscheinen soll. Beobachtungen des Wachstums beider Bakterien auf den schwarzen Nährböden zeigten, dass der Typhusbacillus in jungen Impfstriichen als feuchte Auflagerung erschien, ohne irgend welche Färbung; erst nach längerer Zeit, nach 8 bis mehr Tagen, ist die Kultur so dick gewachsen, dass der Belag weisslichgrau sich zu erkennen giebt. Das Bact. coli comm. zeigte dahingegen ein entschieden intensiveres Wachstum, denn schon nach einigen Tagen bildete es einen dicken, weissen Schleier.

Bei der Prüfung der von mir untersuchten Typhus- und Colonbacillen nach der von Marpmann angegebenen

¹⁾ Marpmann: Zur Unterscheidung des Bact. typhi abdominalis von Bact. coli commune. (Centralblatt f. Bakt. Bd. XVI. S. 817. — 1894. —)

Methode auf Malachitgrün-Sulfit-Agar erhielt ich nur wenig gute Resultate. Wenngleich oft Verschiedenheiten in der Färbung der Kultur wohl beobachtet werden konnten, so waren dieselben in einzelnen Fällen doch nur sehr gering; auch zeigten die Typhuskulturen nicht immer die gleichmässige intensive Färbung. Bei meinen Versuchen machte ich ferner die Beobachtung, dass der schon sterile Malachitgrün-Sulfit-Agar nach längerem Stehen bei gewöhnlicher Temperatur seine grüne Farbe völlig wieder annahm, trotzdem er nach der Sterilisation ganz farblos erschien.

III. Reihe:

Mikroskopische Untersuchung der Kulturen geeigneter Nährböden.

Bei der mikroskopischen Betrachtung der Kulturen können nur die Gelatine-Plattenkulturen in Frage kommen, und zwar sowohl die Tiefen-, als auch die Oberflächenkulturen. Bis vor kurzem wurden nur Aussaaten in 10 prozentiger Gelatine gemacht.

Man glaubte bei der genauen mikroskopischen Untersuchung der Struktur einer Kolonie Unterschiede zu finden; aber hierbei erhielt man keine guten Resultate. Zwar werden wohl hier und dort Unterscheidungsmerkmale für die Oberflächenkultur angegeben, doch sind dieselben nicht konstant aufzufinden und deshalb für die Differentialdiagnose beider Bakterien von geringem Werte. So schreibt Heim¹⁾ bei der Charakteristik von Typhuskolonien:

„Im Inneren, selten ganz in der Mitte, sieht man den Ausgangspunkt der Kolonie als eine kleine, rundliche, dunkle Stelle, in deren Umgebung die Färbung ins

¹⁾ Heim: Lehrbuch der bakteriologischen Untersuchungen und Diagnostik 1894. S. 386. —

gelblichbräunliche spielt. Wenn auch etwas dicker als der Rand, ist doch diese innere Zone nicht so dick, hügelartig erhaben, wie bei anderen ähnlich wachsenden Bakterien, z. B. bei der Kolonie eines Bakteriums aus diarrhoischem Stuhle (*Bact. coli comm.*).“

Als vereinzelt beobachtete Eigentümlichkeiten der Kulturen finden sich verschiedene Notizen in der Literatur. Fremlin beobachtete die Pünktchenkolonie an der Oberfläche bei *Bact. coli comm.*, welche Form ich, wie schon früher erwähnt, auch bei Typhuskulturen zuweilen antraf, die aber mikroskopisch keine charakteristische Eigenschaften erkennen liessen. Baginski¹⁾ hatte an Kolonien des *Bact. coli comm.* „Vorbuchtungen und eigentümlich verzweigte Formen“ gesehen. Heim²⁾ machte ähnliche Beobachtungen bei tiefliegenden Typhuskolonien und beschreibt dieselben wie folgt: „Die tiefliegenden Ansiedlungen stellen runde, ovale oder wetzsteinförmige, scharf, aber nicht regelmässig begrenzte, gelblichbraune Einlagerungen dar, von entweder gleichmässiger Färbung im Innern oder mit einer dunklern Mittelzone und mit erkennbarer Zeichnung in Gestalt eines dicht durcheinander gehenden Knäuls feinsten Fädchen; diese scheinen manchmal am Rande hervorzutreten und dann auch wohl wie zu kleinen Zöpfchen zusammengedreht zu sein.“

Eine gleiche Wahrnehmung machte auch Rosenthal³⁾. Er beobachtete während sehr heisser Tage in Platten-güssen, die aus dem Dünndarminhalte einer frischen menschlichen Leiche angelegt waren, eigentümliche

¹⁾ Baginski: Berliner klinische Wochenschrift XXVI. 1889.

²⁾ Heim: Lehrbuch der bakteriologischen Untersuchungen und Diagnostik 1894. S. 385.

³⁾ Werner Rosenthal: Beobachtungen über die Variabilität der Bakterienverbände und der Kolonieformen unter verschiedenen physikalischen Bedingungen. (Deutsches Archiv f. klinische Medicin Bd. 55. 1895.)

Kolonien, die sich später als Kolonien des *Bact. coli* comm. erwiesen, „teils im Ganzen plump, zopfähnlich gedreht, teils kugelig rund, aber mit Buckeln und zopfähnlichen Fortsetzen“.

Rosenthal vermutete eine Art Ausschwärmen zu beobachten, denn diese Kolonien traten in den Verdünnungen viel zahlreicher auf, als man erwarten konnte, und waren ungleichmässig über die Schale zerstreut. Herr Professor Hauser, dem die Kultur gezeigt wurde, hatte schon häufiger ähnliche Kulturen von *Bact. coli* comm. in der Nähe von Gelatine verflüssigenden Bakterienkolonien gesehen. Da die Vermutung nahe lag, dass derartige Formen der Kultur durch die Konsistenz der Gelatine bedingt wurden, so legte Rosenthal Kulturen von *Bact. coli* comm. in 2,5 und 3,3 prozentiger Gelatine an. Diese dünnen Gelatinen waren bei 15° bis 20° C. noch fest, zwar zeigten sie in dünner Schicht bei Bewegung ein Zittern. Bei der Untersuchung liessen die tiefliegenden Kulturen ein Hervorwachsen der Bakterien in Form von Fädchen erkennen. Rosenthal untersuchte nun, um zu erforschen, ob diese Form der Kulturen eine Eigentümlichkeit von *Bact. coli* comm. sei, in gleicher Weise noch andere bewegliche Bakterien und zwar den *Typhusbacillus*, *Cholera vibrio* und *Bact. subtilis*. Der *Typhusbacillus* verhielt sich in den dünnen Gelatinen den Colonbakterien sehr ähnlich, nur zeigten die Typhuskulturen unter gleichen Bedingungen immer noch mehr lockeres Wachstum als die Kulturen des *Bact. coli* comm. Ausserdem bemerkte man bei Typhuskulturen neben der Bildung gerader Fädchen ganz regelmässige Spiralen, wohingegen Rosenthal bei Kolonien des *Bact. coli* comm. nie so ganz regelmässige Schraubenformen, sondern neben geraden nur noch häufig geknickte Fäden beobachtete.

Rosenthal's Versuche waren aber nur gering an Zahl; doch da ihm die Zeit fehlte, seine Unter-

suchungen weiter fortzuführen, so veröffentlichte er dieselben, wie er selbst hervorhebt mit dem Bewusstsein, dass seine Arbeit eine nicht abgeschlossene sei, und stellt auch den Unterschied zwischen beiden Bakterien in der Bildung oder Nichtbildung von Spiralen noch in Frage.

Die Rosenthal'schen Untersuchungen wurden von mir im vorigen Sommer weiter fortgesetzt und bilden wesentlich die Grundlage vorliegender Arbeit. — Meine Beobachtungen stellte ich im 2. Teile meiner Arbeit zusammen.

IV. Reihe:

Beobachtung der chemischen Zersetzung und Reaktionsveränderung verschieden zubereiteter Nährböden, bewirkt durch das Wachstum der Bakterien.

1. Gährungsprobe in zuckerhaltigen Nährböden.

Schon Escherich¹⁾ hatte hervorgehoben, dass das *Bact. coli* comm. im Stande sei, eine beträchtliche Menge Lactose zu vergähren und Th. Smith²⁾ war es, der 1890 zuerst die Gährungsprobe zur Differentialdiagnose zwischen dem *Bact. coli* comm. und dem Typhusbacillus empfahl. Smith führte dieselbe in dem Gährungskölbchen aus und verwendete eine 2^o/_o Traubenzucker enthaltende schwach alkalische Peptonbouillon. Wurde letztere mit dem Typhusbacillus geimpft, so trübte sich die ganze Flüssigkeit innerhalb 24 Stunden. Nach einigen Tagen setzten sich die Bakterien in der geschlossenen Röhre ab, und die Flüssigkeit wurde wieder klar. Gasbildung beobachtete Smith hierbei nie. Nach dem Impfen mit *Bact. coli* comm. trat in

¹⁾ Escherich: Darmbakterien des Säuglings. Stuttgart 1886

²⁾ Th. Smith: Centralblatt f. Bakteriologie Bd. VII. S. 504.

der Bouillon ebenfalls nach 24 Stunden eine ziemlich starke Trübung ein, aber abweichend von der Typhuskultur füllte sich innerhalb dieser Zeit ein Drittel der geschlossenen Röhre mit Gas. Nach 3 bis 4 Tagen zeigte sich die Gährung als beendet. Die Flüssigkeit fing an sich zu klären. Jetzt war ungefähr die Hälfte des geschlossenen Schenkels mit einem Gas gefüllt, das nach Smith ziemlich gleichmässig aus 1 Vol. Kohlensäure und 2 Vol. eines explosiven Gases (vielleicht Wasserstoff) bestand. Kölbchen, die spät nachmittags geimpft waren, liessen schon am andern Morgen die Gasentwicklung erkennen.

Smith führte diesen Gährungsversuch auch aus, indem er die Glycose durch Lactose und später durch Saccharose ersetzte. Dabei machte er folgende Beobachtungen: *Bact. typhi abdominal.* erzeugte auch hier nie Gas, bei *Bact. coli comm.* trat aber in der Lactose-Bouillon und gewöhnlich auch nach einigen Tagen in der Saccharose-Bouillon Gasentwicklung auf.

Die Reaktionen der Kulturflüssigkeiten waren bei den Versuchen von Smith die folgenden:

1. mit Typhusbacillen geimpfte Kulturen:

- | | |
|--|--|
| a) Glycose-Bouillon | } anfangs ziemlich
stark sauer
später alkalisch. |
| b) Lactose-Bouillon | |
| c) Saccharose-Bouillon: anfangs schwach sauer, | |

2. mit *Bact. coli comm.* geimpfte Kulturen:

- | | |
|--|-------------------------|
| a) Glycose-Bouillon | } ziemlich stark sauer, |
| b) Lactose-Bouillon | |
| c) Saccharose-Bouillon: vorübergehend sauer. | |

Chantemesse und Widal¹⁾ wendeten ebenfalls zur Differentialdiagnose zwischen dem Typhusbacillus und

¹⁾ Chantemesse et Widal: Le Bulletin méd. 1891. No. 82. S. 935.

dem *Bact. coli comm.* die Gährungsprobe mit gutem Erfolge an. Sie fügten der gewöhnlichen Bouillon ausser 2⁰/₀ Lactose noch 1 oder 2⁰/₀ sterilisiertes Calciumcarbonat hinzu. Nach ihren Untersuchungen kann der Zuckergehalt der Bouillon innerhalb weiter Grenzen schwanken, ohne auf das Wachstum der Bakterien einen schädigenden Einfluss auszuüben. Das *Bact. coli comm.* entwickelte sich in Bouillon mit 2⁰/₀₀ bis 15⁰/₀ Milchsucker gut.

Chantemesse und Widal behandelten die Bouillonkölbchen vor dem Impfen in Autoclaven, um sie von den mit dem Calciumcarbonat eingeführten Luftbläschen zu befreien. Schon nach einem Wachstum von wenigen Stunden bei Bruttemperatur zeigte sich in den Colikulturen die Entwicklung von Gasblasen, während in den Typhuskulturen auch nicht die geringste Gasentwicklung bemerkt wurde. Zur relativ raschen Differenzierung beider Bakterien genügt es nach Chantemesse und Widal, der geimpften Bouillonkultur etwas gewöhnlichen Zucker und gepulverte Kreide zuzusetzen und die Kultur bei Körpertemperatur zu halten.

Wurtz¹⁾ benutzte bei seinen Untersuchungen feste Nährböden, die mit Lactose versetzt und durch Zusatz von Lacmus blau gefärbt waren. Die blaue Farbe des Nährbodens soll bei den Typhuskulturen unverändert bestehen bleiben, während dieselbe in den Colikulturen allmählich in rot übergeht.

Berücksichtigt man nun noch die Angaben zahlreicher anderer Autoren, die sich der Gährungsprobe zur Differentialdiagnose bedienten, so kann man mit Recht sagen, dass die grosse Fähigkeit eines fraglichen Bakteriums, Gährung zu erzeugen, jetzt einer der sichersten Beweise ist, dass es sich nicht um *Bact.*

¹⁾ Wurtz: *Bacille d'Eberth et coli-bacille.* (Le Bulletin méd. No. 100. S. 1155. — 1891.)

typhi abdominal., sondern um *Bact. coli comm.* oder ein anderes typhusähnliches Bakterium handelt. Trotzdem vermag aber die Gährungsprobe allein auch keinen unanfechtbaren Beweis für die Identität des untersuchten Bakteriums zu liefern, wie die folgenden, in der Literatur verzeichneten Angaben bestätigen.

Jacob Ury¹⁾ berichtet in einer Arbeit von einer Varietät des *Bact. coli comm.*, welches die Gährungsprobe nicht liefere. Unkelhäuser²⁾ wies nach, dass das *Bact. coli comm.* seine Gährfähigkeit für gewöhnliche Bouillon verliert, und letztere für Zuckerbouillon bedeutend abnimmt, wenn das Bakterium längere Zeit hindurch auf neutralem, zuckerfreiem, mineralischem Nährboden fortgezüchtet war. Ferrati³⁾ beobachtete, nachdem schon früher Dubief⁴⁾ ähnliche Angaben gemacht hatte, bei der Züchtung auf Traubenzucker-Gelatine mit Zusatz von Lacmusfarbstoff, dass auch der Typhusbacillus den Traubenzucker in geringem Masse vergährte, ohne dass jedoch, wie beim *Bact. coli comm.* Gasentwicklung eintrat. Die Gährung erkannte Ferrati bei Typhuskulturen an der Rotfärbung des Nährbodens, die bei Kulturen des *Bact. coli comm.* sich allerdings bedeutend intensiver zeigte. Auch trat bei dem *Bact. coli comm.* rascher die darauf folgende Entfärbung ein. J. Weiland⁵⁾ erkannte, dass auch die Typhusbacillen

¹⁾ Jacob Ury: Ueber die Schwankungen des *Bact. coli comm.* in morphologischer und kultureller Beziehung. (Inaug.-Diss. 8° S. 47. Strassburg i. E. 1894.)

²⁾ Unkelhäuser: Beitrag zum Identitätsnachweis des *Bact. coli commune* und des Typhusbacillus. (Inaug.-Diss. Würzburg 1894).

³⁾ Ferrati: Zur Unterscheidung des Typhusbacillus vom *Bact. coli comm.* (Archiv f. Hyg. Bd. XVI. 1893.)

⁴⁾ Dubief: Comptes rendus de la société de biologie 1891 No. 28.

⁵⁾ J. Weiland: Zur Differenzierung der Typhusbacillen von typhusähnlichen Bakterien. (Archiv f. Hyg. Bd. XIV. S. 377, 1892).

Kohlensäure in Bouillon entwickelten. Er bestimmte die gebildete Kohlensäure quantitativ nach der von Pettenkofer'schen Methode und vergleicht die Kohlensäureentwicklung des Typhusbacillus mit der des *Bact. coli comm.* und anderer typhusähnlichen Bakterien. Die Bildung der Kohlensäure wurde täglich kontrolliert und 16 Tage hindurch beobachtet. Hierbei zeigte es sich, dass alle typhusähnlichen Bakterien etwa fünfmal so viel Kohlensäure produzierten, wie die echten Typhusbacillen.

Das verschiedene Gährungsvermögen beider Bakterien wird am einfachsten durch Kulturen in Traubenzuckeragar oder gewöhnlicher Gelatine beobachtet. Diese Verfahren sind besonders deshalb sehr wertvoll, weil sie am schnellsten zum Ziele führen.

Germano und Maurea¹⁾ empfehlen einen mit 2% Traubenzucker versetzten Agar. Sie legten Stichkulturen an und fanden, dass die Typhusbakterien verschiedener Herkunft keine Gasentwicklung hervorriefen, wohl aber das *Bact. coli comm.*, sowie alle von ihnen untersuchten typhusähnlichen Bakterien.

Die gleiche Beobachtung wurde schon früher bei Gelatinestichkulturen gemacht, doch tritt dieser Unterschied hier in einzelnen seltenen Fällen nicht auf. Gelegentlich des von Herrn Professor Dr. Hauser im pathologischen Institute zu Erlangen geleiteten Kursus für Bakteriologie wurden von frisch aus der Milz gezüchteten, sonst typischen Typhuskolonien Gelatinestichkulturen angelegt, die eine gleiche Gasproduktion zeigten, wie die zu derselben Zeit gemachten Impfstiche von *Bact. coli comm.* Doch ging die Fähigkeit der Gasproduktion bei weiterer Umzüchtung allmählich verloren.

¹⁾ Germano und Maurea: Ziegler's Beiträge zur patholog. Anatomie und allgemeinen Pathologie. Bd. XII. Heft 3. S. 494.

Frankland¹⁾ änderte das Verfahren etwas ab. Er impft zur Diagnose des Typhusbacillus ein Röhrchen verflüssigter Pepton-Gelatine, verteilt die Bacillen in derselben gut und lässt die Gelatine erstarren. Gasbildung findet nicht statt, wenn es sich um Typhusbacillus handelt, während bei dem Bact. coli comm. schon nach 12 bis 48 Stunden zahlreiche Gasblasen bemerkt werden können. Ich bediente mich bei meinen Untersuchungen häufiger dieser Methode, indem ich bei Plattengüssen die erste Verdünnung nicht ausgoss, sondern im Röhrchen erstarren liess und fand die Angaben Frankland's immer bestätigt.

2. Verhalten beider Bakterien bei der Züchtung in steriler Milch.

Der Gährungsprobe stellt sich das Verhalten in steriler Milch an die Seite. Auch hier hatte Escherich²⁾ bereits angegeben, dass das Bact. coli comm. die Milch in 2 bis 4 Tagen zur Gerinnung bringe. Spätere Untersuchungen des Typhusbacillus zeigten, dass dieser zwar auch eine schwache Säuerung der Milch verursachte, aber selbst nach Monaten keine Coagulation hervorrief. Die Gerinnung steriler Milch tritt bei dem Bact. coli comm. bei 37° C. bereits innerhalb 24 bis 48 Stunden deutlich auf unter starker Säuerung. Chantemesse und Widal³⁾ bewiesen, dass die Coagulation der Milch eine Folge der Säurebildung des Bact. coli comm. sei. Die Coagulation konnte durch Neutralisation verhindert werden.

¹⁾ Percy Frankland: Ueber das Verhalten des Typhusbacillus und des Bact. coli comm. im Trinkwasser. (Zeitschrift f. Hyg. Bd. XIX. Heft 3. S. 394. — 1895.)

²⁾ Escherich: Darmbakterien des Säuglings. Stuttgart 1886. S. 67.

³⁾ Chantemesse et Widal; Le Bulletin méd. 1891. No. 82. S. 935.

Das von Jacob Ury¹⁾ bei einer Cholecystitis gezüchtete *Bact. coli comm.* brachte jedoch die Milch nicht zur Gerinnung, und so darf man ein Bakterium, das keine Coagulation der Milch hervorruft, keineswegs nun ohne weiteres mit dem *Bact. typhi abdominal.* identifizieren, wohl aber ist man berechtigt, aus dem Eintreten der Coagulation den Schluss zu ziehen, dass ein solches Bakterium kein *Bact. typhi abdominal.* sein kann.

Erwähnt sei, dass nach den Wahrnehmungen von Unkelhäuser²⁾ die Coagulationsfähigkeit des *Bact. coli comm.* etwas abgeschwächt wird, wenn es auf mineralischen Nährböden gezüchtet wurde. Die Milchgerinnung trat dann erst 24 Stunden später ein als sonst.

Die von Marie Raskin³⁾ empfohlenen festen und durchsichtigen, aus Milch bereiteten Nährböden sind bis jetzt für die Differentialdiagnose zwischen dem *Typus-bacillus* und dem *Bact. coli comm.* ohne hervorragenden Wert geblieben.

3. Beobachtung der Bildung von Säure und Alkali.

Buchner⁴⁾ hatte zuerst Untersuchungen über die Säure- und Alkalibildung der Bakterien angestellt und sich hierbei Nährböden bedient, die mit Lacmusfarbstoff versetzt waren. Nachher haben Neisser⁵⁾, Weisser⁶⁾,

¹⁾ Jacob Ury: Ueber die Schwankungen des *Bact. coli comm.* in morphologischer und kultureller Beziehung. (Inaug.-Diss. 8° S. 47. Strassburg i. E. 1894.)

²⁾ Unkelhäuser: Beitrag zum Identitätsnachweis des *Bact. coli comm.* und des Typhusbacillus. (Inaug.-Diss. Würzburg 1894.)

³⁾ Marie Raskin: St. Petersburger medicin. Wochenschrift 1887. No. 43. S. 357.

⁴⁾ Buchner: Zur Kenntniss des Neapler Cholera-bacillus u. s. w. (Archiv f. Hyg. Bd. III. 1885.)

⁵⁾ Neisser: Virchow's Archiv. Bd. XCIII.

⁶⁾ Weiser: Ueber die Emmerich'schen sogen. Cholera-bakterien. (Zeitschrift f. Hyg. Bd. I. 1886.)

Cohen¹⁾, Loeffler²⁾ und Behring³⁾ Versuche veröffentlicht, die gleichfalls mit Lacmusnährböden angestellt wurden. Petruschky⁴⁾ machte dann weitere eingehende Erforschungen und versuchte unter anderen den Lacmusnährboden für die Differentialdiagnose zwischen dem Typhusbacillus und dem Bact. coli comm. wie anderen ähnlichen Bakterien verwertbar zu machen. Petruschky verglich sorgfältig die teils sich widersprechenden Resultate oben genannter Autoren und stellte dann eigene Versuche an, die ihm zeigten, dass es 3 gegen einander streitende Einflüsse sind, die auf die Lacmusfarbe einwirken.

Diese sind:

1. Die Bildung von Säure und Alkali, welche Rötung bezw. Bläuung der Farbe zur Folge hat,
2. Die Reduktionswirkung, die sehr vielen Bakterien eigen ist und Entfärbung des Lacmus herbeiführt,
3. Die reoxydierende Wirkung der den meisten Bakterien unentbehrlichen atmosphärischen Luft, welche die verschwundene Farbe allmählich wiederherstellt.

Es galt also, die sub 2 und 3 angeführten Einflüsse unschädlich zu machen, um ein untrügliches Bild zu gewinnen über die Einwirkung der Bakterien auf die Reaktion des Nährbodens und die dadurch bedingte

¹⁾ Cohen: Ueber die Reduktionswirkung der Bakterien. (Zeitschrift f. Hyg. Bd. II. 1886.)

²⁾ Loeffler: Ueber Bakterien in der Milch. (Berl. klin. Wochenschrift. 1887. No. 33.)

³⁾ Behring: Zur Aetiologie des Milzbrandes. (Zeitschrift f. Hyg. Bd. V und VII.)

⁴⁾ Petruschky: Bakterio-chemische Untersuchungen. (Aus dem hyg. Institute zu Göttingen.) (Centralblatt f. Bakt. Bd. VI. S. 625. 1889.)

Veränderung der Lacmusfarbe. Da eiweiss- und peptonhaltige Nährböden die Reduktionswirkung begünstigen, so empfahl Petruschky als einheitlichen Nährboden für die systematische Anstellung grösserer Versuchsreihen die Lacmusmolke. Letztere wird wie folgt dargestellt:

Frische Milch wird durch Erwärmen und Zusatz einer geringen Menge stark verdünnter Salzsäure coaguliert. Vom Kaseinniederschlage wird die schwach sauer reagierende Molke abfiltriert und mit verdünnter Natronlauge oder Sodalösung genau neutralisiert. Darauf wird die Flüssigkeit 1 bis 2 Stunden im Dampftopfe gehalten und bis zur völligen Klarheit filtriert. War die Molke alkalisch, so besitzt sie jetzt eine dunkelgelbe bis braune Farbe und ist unbrauchbar. Sollte die Flüssigkeit beim Filtrieren trübe bleiben, so lasse man im sterilen Zustande absetzen und hebere dann die klare Molke ab. Letztere muss ganz wasserhell sein, einen leichten Stich in's Gelbgrünliche zeigen und sich genau neutral erweisen. Je 100 ccm der Molke werden mit 5 ccm Lacmustinktur versetzt, worauf die Flüssigkeit einen schönen neutralvioletten Farbenton annehmen muss. Die so erhaltene Lacmusmolke wird zu je 5 oder 10 ccm in sorgfältig gereinigte Reagensgläser abgefüllt und wie üblich sterilisiert. Die Röhrchen, in denen sich die Farbe durch die Sterilisation verändert hat, sind auszuschalten.

Die Kultivierung der Bakterien in diesem Nährboden geschieht gewöhnlich im Brutschranke. Das Maximum der Reaktionsveränderung ist meist schon nach 3 bis 5 Tagen erreicht, doch empfiehlt es sich, die Kulturen 10 Tagen wachsen zu lassen, wenn man die Stärke der Reaktionsveränderung titrimetrisch feststellen will.

Petruschky fand nun, dass beide Bakterienarten, sowohl der Typhusbacillus, als auch das Bact. coli comm. (Bact. Neapolit. Emmerich), auf seiner Lacmusmolke als Säurebildner auftraten. Während jedoch der Typhus-

bacillus 2 bis 3% Säure bildete, wurde durch das *Bact. coli comm.* 7 bis 8% Säure erzeugt. Auch andere typhusähnliche Bakterien, die Petruschky untersuchte, liessen sich sämtlich durch stärkere Säurebildung gut vom Typhusbacillus unterscheiden. Petruschky empfiehlt, stets die Untersuchung einer zweifellosen Typhus-Reinkultur der Prüfung der fraglichen Kultur nebenher zum Vergleiche auszuführen, da geringe Veränderungen des Nährbodens (Zurückbleiben eines Eiweissgehalts, Abweichung von der neutralen Reaktion u. s. w.) nicht unbedeutende Unterschiede in der Grösse der Bakterienwirkung zu bedingen scheinen.

Wie die Untersuchungen von Buchner, Sirotinin und Petruschky ergaben, hat die künstliche Neutralisation der durch die Bakterien gebildeten Säure erneute Säurebildung zur Folge.

Die mit Petruschky'scher Lactusmolke erhaltenen Resultate dürfen auf das Wachstum in anderen Nährböden nicht bezogen werden. Hierauf machte Petruschky schon selbst aufmerksam und Smith¹⁾ betont auf Grund seiner Untersuchungen von neuem, dass es von der grössten Wichtigkeit sei, bei dem Nachweis der Säure- und Alkalibildung der Bakterien auf die genaue Zusammensetzung des Nährbodens zu achten. Smith gelang es nachzuweisen, dass die Säurebildung des *Bact. coli comm.* in der Laktusmolke nur auf der Zersetzung des Milchzuckers beruhe. Züchtete Smith das *Bact. coli comm.* in leicht saurer Peptonbouillon, so konnte er eine langsame Alkalisierung der Flüssigkeit wahrnehmen. Auch der Typhusbacillus trat in solcher Peptonbouillon als Alkalibildner auf, doch war erst nach 10 Tagen eine Alkaleszenz zu beobachten.

¹⁾ Th. Smith: Einige Bemerkungen über Säure- und Alkalibildung bei Bakterien. (Centralblatt f. Bakt. Bd. VIII. S. 389. 1890.)

J. Weiland¹⁾ bestimmte die durch das Wachstum der Bakterien in 10 ccm Milchserum gebildete Säuremenge nach den Angaben von Petruschky, bediente sich jedoch als Indikator einer alkoholischen Lösung von Phenolphthaleïn. Nach dreitägigem Verweilen im Brutschranke, als das Maximum der Säurebildung eingetreten war, erforderten 10 ccm des mit Typhusbacillen geimpften Serums 8,0 resp. 9,1 ccm $\frac{1}{100}$ Normalalkali zur Neutralisation, während 10 ccm des mit typhusähnlichen Bakterien geimpften Serums 12,9 resp. 15,4 ccm $\frac{1}{100}$ Normalalkali gebrauchten.

P. Kaufmann²⁾ empfahl eine neue Methode, um die Reaktionsveränderungen des Nährbodens, bewirkt durch das Wachstum der Bakterien, zur Anschauung zu bringen. Dieselbe ist zwar etwas weniger vollkommen als die von Petruschky angegebene, hat aber den Vorzug der leichteren Ausführbarkeit. Kaufmann wählte als Nährboden einen wässerigen Auszug von entschältem Jequirittysamen (*Abrus precatorius*). Denselben stellte er wie folgt dar: 8,0 Gramm des entschälten Samens (= 10,0 Gramm des Samens mit Schale) wurden mit 100 ccm Wasser im Dampfsterilisator gekocht, der sich beim Erkalten der Flüssigkeit ausscheidende Niederschlag abfiltriert und das Filtrat in Reaktionsgläser abgefüllt und sterilisiert.

Kaufmann's Nährboden, von ihm der Kürze halber Jequirittylösung genannt, bildet eine hellgelbe, neutrale bis ganz schwach alkalisch reagierende Flüssigkeit.

Kaufmann beobachtete nun bei seinen Untersuchungen, dass:

1. einige Bakterien, die garnicht oder nur schlecht wuchsen, die Farbe der Lösung unverändert

¹⁾ J. Weiland: Archiv f. Hyg. Bd. XIV. Heft 4. S. 374.

²⁾ P. Kaufmann: Centralblatt f. Bakt. Bd. X. S. 65.

liessen (Nur geringe Trübung und Bodensatz trat ein.),

2. Bakterien, die Säure bildeten, die Lösung entfärbten,

3. Bakterien, die Alkali erzeugten, eine Grünfärbung hervorriefen.

Hiernach charakterisierte sich nun der Typhusbacillus als schwacher Alkalibildner, bewirkte also Grünfärbung des Nährbodens. Das *Bact. coli comm.* hingegen bildete Säure; es trat Entfärbung der Lösung ein.

Auch bei Zusatz von $1\frac{1}{2}$ bis 2% Agar-Agar zur Jequirittylösung hatte Kaufmann gute Erfolge bei der Kultivierung von *Bact. typhi abdominal.* und *Bact. coli comm.* Während der Typhusbacillus nur eine weisse Trübung des Agars verursachte, trat bei Kulturen des *Bact. coli comm.* auf neutralem Agar schwache Grünfärbung auf.

Als Nachteile bei der Benutzung der Jequirittylösung als Nährboden für Bakterien stellte sich heraus, dass die Beweglichkeit der Bakterien sehr schnell verlangsamt wurde oder auch aufhörte, dass ein Weiterkultivieren durch mehr als 3 bis 4 Generationen nicht möglich war, und dass die gefärbten mikroskopischen Präparate keine ganz klaren Bilder lieferten.

Ferrati¹⁾ hält beide Bakterien, sowohl *Bact. typhi abdominal.* als auch *Bact. coli comm.*, für Alkalibildner, wenn sie in gewöhnlicher Gelatine gezüchtet werden, doch soll die Alkaliproduktion des *Bact. coli comm.* im Verhältnis zu dem bedeutend kräftigerem Wachstum nur unbedeutend stärker sein, was sich vielleicht durch die gleichzeitige grössere Kohlensäurebildung erklärt. Ferrati züchtete beide Bakterien auch auf Gelatine, der er gleichzeitig Asparagin und Lacmusfarbstoff zusetzte und

¹⁾ Ferrati: Zur Unterscheidung des Typhusbacillus vom *Bact. coli comm.* (Archiv f. Hyg. Bd. XVI. Nr. 1. 1892.)

fand, dass auf diesen Nährboden die Alkalibildung deutlicher erkennbar wurde, und somit auch der Unterschied zwischen beiden Bakterien. Das *Bact. coli comm.* erzeugte rascher und kräftiger Alkali als der *Typhusbacillus*.

Vergleicht man die Resultate von Kaufmann, Petruschky, Smith und Ferrati mit einander, so erkennt man leicht, dass sich die beiden Bakterien in Bezug auf Alkali- und Säureproduktion recht gut unterscheiden, doch sind die Resultate bei jedem einzelnen Nährboden verschieden von den Resultaten anderer Nährböden, weshalb man bei derartigen Untersuchungen mit peinlichster Genauigkeit auf die Zusammensetzung des Nährbodens zu achten hat.

4. Zersetzung des Amygdalins durch Bakterien.

Bei der Züchtung des *Bact. coli comm.* in amygdalinhaltiger Bouillon bemerkte Inghilleri ¹⁾ ein allmähliches Eintreten einer sauren Reaktion. Nach 36 Stunden konnte er auch deutlich den Bittermandelölgeruch wahrnehmen. Die in gleicher Weise behandelten Typhuskulturen desselben Nährmediums blieben dagegen alkalisch. Nach den Beobachtungen Inghilleri's wirkt das *Bact. coli comm.* analog dem Emulsin, indem es das Glycosid Amygdalin spaltet in Traubenzucker, Blausäure und Benzaldehyd. Um die Glycose in den Kulturen nachzuweisen, bediente sich Inghilleri der Gruber-Bercholtz'schen Reaktion. Die Blausäure wurde aus der Kultur ausgetrieben, in Kalihydrat aufgefangen und dann durch die Berlinerblaureaktion nachgewiesen. Diese Reaktionen traten bei den betreffenden Typhuskulturen nicht ein.

¹⁾ Inghilleri: Ueber das verschiedene Verhalten des *Bact. coli* und des *Typhusbacillus* in amygdalinhaltiger Bouillon. (Centralblatt f. Bakt. Bd. XV. S. 821. 1894.)

Da eine sterilisierte Colikultur nicht die Wirkung der lebenden hat, so nimmt Inghilleri an, dass die Spaltung des Amygdalins durch das *Bact. coli comm.* nicht auf die Absonderung eines Fermentes zurückzuführen ist, sondern vielmehr durch das Leben der Bakterien bedingt wird.

5. Zersetzung des Harnstoffs durch Bakterien.

Gorini¹⁾ züchtete zwecks Differentialdiagnose den Typhusbacillus und das *Bact. coli comm.* auf Gelatine, welcher 2 % Harnstoff zugesetzt war. Diese Gelatine, die ursprünglich durch den Harnstoffgehalt etwas getrübt ist, hellt sich, nachdem ein Impfstich mit Typhusbacillen gemacht ist, am 3. oder 4. Tage auf und lässt überall gleichmässig verteilte, feine, weisse Körnchen erkennen (Ammoniumcarbonat?). In den in gleicher Weise angelegten Kulturen des *Bact. coli comm.* hingegen werden nur am Impfstiche Krystalle gebildet, die haufenförmig angeordnet sind; ausserdem sind in der übrigen klaren Gelatine zahlreiche Glasbläschen zu bemerken, die, wie Gorini annimmt, wahrscheinlich von der Spaltung des Harnstoff's in Kohlensäure und Ammoniak herrühren.

V. Reihe:

Nachweis bestimmter, durch die Bakterien in den Nährböden gebildeten chemischen Verbindungen durch chemische Reaktionen.

1. Indolreaktion.

Kitasato²⁾ erkannte die schon früher von Salkowsky³⁾ für die Cholera angegebene Indolreaktion

¹⁾ C. Gorini: Sopra un nuovo criterio diagnostico del Bacillo del Tifo. (Giornale della Reale Società Italiana d'Igiene 1894. Nr. 7.)

²⁾ Kitasato: Die negative Indolreaktion der Typhusbacillen im Gegensatze zu anderen ähnlichen Bakterienarten. (Zeitschrift f. Hyg. Bd. VII. S. 518. 1889.)

³⁾ Salkowsky: Ueber das Cholerarot und das Zustandekommen der Cholerareaktion. (Virchow's Archiv. 1887. Bd. CX. S. 366.)

als ein recht wohl geeignetes Unterscheidungsmerkmal zwischen dem Typhusbacillus und dem Bact. coli comm. wie anderen ähnlichen Bakterien. Während alle die von Kitasato untersuchten typhusähnlichen Bakterien die Indolreaktion gaben, trat bei dem Typhusbacillus nie die charakteristische Rosafärbung auf, da hier weder Indol noch Skatol gebildet wurde.

Das Verfahren giebt Kitasato wie folgt an: „Man setzt zu 10 ccm peptonhaltiger, alkalischer Bouillonkultur der zu untersuchenden Bakterien, welche 24 Stunden lang bei Bruttemperatur gestanden hat, 1 ccm einer Lösung von reinem Kaliumnitrit, die 0,02 in 100 ccm enthält und dann einige Tropfen conc. Schwefelsäure zu.“ Bei Gegenwart von Indol tritt rosa oder tiefrote Färbung ein.

Dunham¹⁾ zeigte zuerst, dass ein Peptongehalt im Nährsubstrate nötig sei, wenn die Reaktion gut zu erkennen sein soll. Er empfahl zur Ausführung der Indolreaktion als Kulturflüssigkeit das auch jetzt noch für am geeignetsten geltende Peptonwasser — 1 prozentige wässrige Peptonlösung mit 0,5% Chlornatrium. —

Petri²⁾ macht darauf aufmerksam, dass es für das Zustandekommen einer guten Reaktion von Wichtigkeit sei, dass zwischen Nitrit und Indol ein gewisses Verhältnis bestehe. Petri schreibt: „Ist die Nitritmenge zu gering, so kann trotz reichlichen Indolgehalts der Kulturen, insbesondere, wenn dieselben gelblich gefärbt sind, die rote Färbung sehr schwach sein. Durch nachträgliches Hinzufügen von verdünnter Nitritlösung (Sal-kowsky), sowie auch durch Erwärmen, kann man als-

¹⁾ Dunham: Zur chemischen Reaktion der Cholera-bakterien. (Zeitschrift f. Hyg. 1887. S. 337.).

²⁾ Petri: Ueber die Verwertung der roten Salpetrigsäure-Indolreaktion zur Erkennung der Cholera-bakterien.

(Arbeiten aus dem kaiserl. Gesundheitsamte Bd. VI. S. 1. 1890.)

dann die Reaktion verstärken oder hervorrufen. Bei zu hohem Nitritgehalte bleibt die Reaktion ebenfalls aus.“ Petri empfiehlt einen Schwefelsäurezusatz von 10 Tropfen zu je 6 ccm Kulturflüssigkeit.

2. Kreatininreaktion.

Diese Reaktion wurde zur Differenzierung des Typhusbacillus vom Bact. coli comm. von Zinno ¹⁾ angegeben. Als Nährboden benutzte Zinno eine Lösung von 2% reinem Pankreaspepton (Merk.) und 0,5% Chlornatrium fügte er einer Bact. coli comm.-Kultur in diesem Nährboden eine kleine Menge Natriumkarbonatlösung und sodann einige Tropfen einer frisch bereiteten Nitroprussidnatriumlösung hinzu, so färbte sich die Bouillon intensiv rot. Die rote Farbe ging jedoch bei längerem Stehen in die gelbe über. Bei Zusatz von Essigsäure wurde die Flüssigkeit anfangs smaragdgrün, dann allmählich blau gefärbt. Bei Ammoniakzusatz bleibt diese Reaktion aus. Sämtliche Kulturen vom Bact. coli comm. verschiedener Provenienz, die Zinno zur Verfügung standen, zeigten diese Reaktion, während dieselbe bei den Typhuskulturen nie eintrat. Den Nachweis, dass es sich hierbei thatsächlich um Kreatinin handelt, führte Zinno nach der von Neubauer angegebenen Methode durch Darstellung der Kreatinin-chlorzinkkrystalle.

Bei der Anwendung dieser Reaktion erhielt ich nur sehr ungünstige Resultate. Die Rotfärbung trat stets nur kaum merklich ein, obgleich die spätere Grün- und Blaufärbung nach Zusatz der Essigsäure deutlicher

¹⁾ Zinno: Contributio allo studio dei processi bio-chimici dei batteri, con speciale riguardo alla diagnosi differenziale tra vari microorganismi simili. (Riforma medica 1893. Nr. 218.)

sichtbar war. Diese Reaktionen traten aber nicht allein bei den Colikulturen, sondern in gleicher Weise auch bei den Typhuskulturen ein. Ein Unterschied zwischen beiden Bakterien konnte durch diese Reaktion bei den von mir untersuchten Kulturen überhaupt nicht konstatiert werden. Im sterilen, nicht geimpften Peptonwasser trat die Kreatininreaktion nicht ein.

II.

Untersuchungen des Wachstums von *Bact. typhi abdominalis* und *Bact. coli commune* in Nährböden mit verschiedenem Prozentgehalt an Gelatine bei verschiedenen Temperaturen.

Die schon im ersten Teile meiner Abhandlung angegebene Arbeit von W. Rosenthal (s. S. 27) behandelt das Wachstum verschiedener Bakterien in verdünnten Gelatinen. W. Rosenthal wendete bei seinen Untersuchungen 2,5 und 3,3 prozentige Gelatine an und fand bei verschiedenen, schon gut bekannten Bakterienarten Veränderlichkeit ihrer Wachstumsformen in Gelatine unter dem Einflusse von 2 Faktoren, der Konsistenz der Gelatine und der Temperatur. Von besonderem Werte erschien W. Rosenthal die Beobachtung des Vorkommens regelmässiger Spiralen neben der Bildung gerader Fäden bei Typhuskolonien in den dünnen Gelatinen und meinte er, dieser Befund könne vielleicht für die Diagnose des Typhusbacillus wichtig sein, besonders da bei *Bact. coli comm.* neben geraden zwar häufig mehrfach geknickte Fäden, aber nie so ganz regelmässige Schraubenformen von ihm beobachtet wurden.

W. Rosenthal zieht aus seinen Untersuchungen jedoch keine sicheren Schlüsse, da er nur wenig Versuche anstellen und die Temperaturschwankungen weniger genau beobachten konnte. Da nun ein Unterschied zwischen *Bact. coli comm.* und *Bact. typhi abdominal.*, wie er von W. Rosenthal in der Bildung oder Nicht-

bildung von Spiralen in verdünnten Gelatinen vermutet wurde, für die Diagnose von ganz hervorragender Bedeutung wäre, und sich nach der von W. Rosenthal angegebenen Züchtung der Bakterien vielleicht auch noch weitere Unterschiede erkennen liessen, so war es von grossem Interesse, dass die Untersuchungen von W. Rosenthal möglichst bald weiter und ausführlicher fortgeführt wurden. Diese Aufgabe war mir von meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Hauser, gestellt.

Zu meinen Untersuchungen benutzte ich folgende Reinkulturen:

1. Typhuskultur I., aus der Milz eines an Typhus verstorbenen Mannes. Im bakteriologischen Laboratorium zu Erlangen $\frac{1}{2}$ Jahr fortgezüchtet.
2. Typhuskultur II., aus Würzburg. — Nähere Angaben über Provenienz und Alter waren nicht zu erlangen. —
3. Colikultur I., frisch aus dem Stuhle eines gesunden Menschen gezüchtet.
4. Colikultur II., aus dem Darme einer frischen Leiche, $\frac{1}{2}$ Jahr im bakteriologischen Laboratorium zu Erlangen fortgezüchtet.
5. Colikultur III., aus dem hohlen Zahne eines Menschen frisch gezüchtet.
6. Colikultur IV., aus dem Erbrochenen eines an Wurstvergiftung erkrankten Menschen frisch gezüchtet.
7. Colikultur V., aus dem Stuhle eines an Cholera nostras erkrankten Menschen frisch gezüchtet.

Zur Identitätsprüfung der Reinkulturen bediente ich mich folgender Verfahren, die schon im ersten Teile meiner Arbeit ausführlich behandelt wurden:

1. Untersuchung der Beweglichkeit der Bakterien im hängenden Tropfen:

Die Typhusbakterien zeigten im allgemeinen eine lebhaftere Beweglichkeit, als die Colibakterien, die mit Ausnahme des *Bact. coli comm.* II. und III. fast nur Molekularbewegung erkennen liessen. Die Beweglichkeit des *Bact. typhi abdominal.* II war eine etwas lebhaftere als die des *Bact. typhi abdominal.* I.

2. Untersuchung des Wachstums der Bakterien auf schwach sauer reagierenden Kartoffeln:

Beide Typhusbakterien zeigten keine sichtbare Auflagerung, obgleich die Oberfläche der Kartoffelschnitten in jedem Falle, wie die mikroskopische Untersuchung ergab, aus langen Bakterienverbänden (Scheinfäden) zusammengesetzt war. — Bei *Bact. coli comm.* II und V war die Kultur auf der Kartoffel auch kaum wahrzunehmen. Die mikroskopische Untersuchung liess aber nicht so lange Bakterienfäden erkennen wie bei den Typhusbacillen. Die übrigen *Bact. coli comm.* zeigten dicke, saftige, braungelbliche Auflagerungen.

3. Untersuchung in 2prozentigem Traubenzuckeragar — Stichkultur —:

Die Typhusbakterien bildeten kein Gas, während sich bei allen Colibakterien zahlreiche Gasbläschen im Agar fanden.

4. Untersuchung im Gährungskölbchen:

Gasproduktion trat bei sämtlichen Colibakterien auf, dagegen bei den Typhusbakterien nicht.

5. Züchtung in Nährgelatine nach dem von Frankland benutzten Verfahren: (s. S. 34.)

Die Gelatine war bei den Colibakterien stets ganz mit Gasbläschen erfüllt, während bei den Typhusbakterien nie eine Gasentwicklung wahrgenommen werden konnte.

6. Wachstum der Bakterien in steriler Milch:

Bei Kulturen sämtlicher Colibakterien trat Gerinnung der Milch ein. Dieselbe wurde durch das Wachstum beider Typhusbakterien nicht hervorgerufen.

7. Indolreaktion:

Dieselbe wurde mit 24 Stunden alten Kulturen in Dunham'scher Lösung ausgeführt. Nach Zusatz von 1 ccm Kaliumnitritlösung (0,2:100,0) und 10 Tropfen conc. Schwefelsäure trat in allen Kulturen des *Bact. coli comm. rosa* Färbung ein. Die Kulturen des *Bact. typhi abdominal.* zeigten bei gleicher Behandlung diese Färbung nicht.

Nach dem Ergebnis dieser sieben verschiedenen Untersuchungen ist die Identität der einzelnen Bakterien-Reinkulturen zur Genüge bewiesen.

Meine Versuche stellte ich, wie auch W. Rosenthal, mit 2,5 und 3,3prozentiger Gelatine an; gleichzeitig benutzte ich noch 5prozentige Gelatine, und bei höheren Temperaturen wurden zum Vergleiche auch Kulturen in 10prozentiger Gelatine angelegt. Diese Nährböden bereitete ich sämtlich frisch nach der bekannten Vorschrift, in der ich nur den Prozentgehalt an Gelatine änderte.

Wie schon W. Rosenthal betonte, musste bei den weiteren Untersuchungen genau die Temperatur beobachtet werden. Da mir Thermostaten nicht zur Verfügung standen, so bediente ich mich des Thermometrographen von Six, der mir gestattete, gleichzeitig die Temperatur-Maximum und -Minimum der Zwischenzeit abzulesen. Mit Hilfe dieses Thermometrographen stellte ich bei allen meinen Versuchen die Temperaturschwankungen täglich etwa 6 mal fest. Wenngleich ich auf diese Weise zwar nicht genau die Temperaturcurve bestimmen konnte, so genügte doch diese Kontrolle der

Temperatur vollkommen für meine Untersuchungen. Bei den meisten der Versuche blieb die Temperatur ziemlich konstant. Temperaturunterschiede von annähernd 10°C. , wie Rosenthal dieselben für seine Untersuchungen angiebt, konnte ich nur 2 mal konstatieren. In den meisten Fällen aber differierte die Temperatur nur zwischen 2 bis 3°C. , zuweilen auch nur um 1°C. Bei sämtlichen Untersuchungen blieb die Temperatur in den Grenzen von 14 bis 26°C.

Die Kulturen wurden in einem dunklen, kleinen, abgeschlossenen Raume aufbewahrt, ferner wurden stets zu gleicher Zeit von sämtlichen von mir untersuchten Typhus- und Colibakterien Petrischalen angelegt, häufig auch gleichzeitig in Gelatinen verschiedener Konzentration. Dadurch wurde erreicht, dass die zu vergleichenden Bakterienkulturen zu jeder Zeit bei den einzelnen Versuchsreihen denselben äusseren Einflüssen ausgesetzt waren.

Die Verdünnungen stellte ich bei den Plattengüssen in der Weise dar, dass ich von einer Agar-Agar-Reinkultur, die alle 8 Tage frisch überimpft wurde, eine Öse Bakterienmaterial für die erste Verdünnung benutzte. Von dieser übertrug ich nach Ausglühen der Nadel weitere 3 Ösen auf die nächste Verdünnung und fuhr sofort bis zur 4. Verdünnung. Die ersten Verdünnungen goss ich später nicht mehr aus, da die Kulturen zu dicht lagen. Selbst die 2. Verdünnungen waren häufig noch zu dicht mit Kolonien übersät, und ich erkannte bald, dass die Menge der Kulturen auch einen gewissen Einfluss auf das Wachstum der einzelnen Kolonien hatte. Ich komme darauf später noch zurück.

Die Kulturen, die mir zum Vergleiche wichtig erschienen, wurden in dem charakteristischen Stadium mit Formalin-Dämpfen fixiert und sogleich mit näheren Angaben versehen über:

1. Temperaturverhältnisse,
2. Zeit des Wachstums,
3. Prozentgehalt des Nährbodens an Gelatine,
4. Verdünnungsgrad.

Bei meinen Untersuchungen konstatierte ich zunächst, dass der verschiedene Prozentgehalt des Nährbodens an Gelatine in den Grenzen von 2,5 bis 5 prozentiger Gelatine einen nur gering differierenden Einfluss auf das Wachstum der Bakterienkolonie hat, die Temperaturunterschiede jedoch von ganz hervorragender Bedeutung sind. Es ist dies keine auffallende Erscheinung, da die Temperatur, wie schon W. Rosenthal angiebt, in drei Richtungen die Kolonieform beeinflusst:

1. durch die Schnelligkeit der Vermehrung der Bakterien,
2. durch die Eigenbewegung der Bakterien,
3. durch die Konsistenz der Gelatine;

der Prozentgehalt des Nährbodens an Gelatine bedingt jedoch nur im Sinne von Nr. 3 die Wachstumsveränderung der Bakterienkolonie.

Bei Temperaturen von 21 bis 22° C. zeigten schon Kolonien des *Bact. coli comm. II.* in 10 prozentiger Gelatine ein deutliches Auswachsen der Bakterien in Fädchen, genau, wie es weiter unten für die Nährböden mit geringerem Prozentgehalte an Gelatine beschrieben ist. Auch hieraus erhellt, dass die Temperatur in viel höherem Grade auf das Wachstum der Kolonie einwirkt als der Prozentgehalt des Nährbodens an Gelatine.

Bei den zahlreichen Untersuchungen der Bakterienkulturen bei verschiedenen Temperaturen in den lockeren Gelatinenährböden beobachtete ich 4 Hauptformen der Kolonien:

1. Kolonien der Tiefe, wie die der Oberfläche zeigen einen völlig glatten Rand.

2. Tiefliegende und Oberflächenkolonien sind locker. Der Rand zeigt ausgewachsene Bakterienfädchen.
3. Bei sämtlichen Kolonien findet ein Ausschwärmen mit sekundärer Bildung von Zoogloen statt.
4. Die Bakterien aller Kolonien schwärmen in grosser Anzahl aus. Es bildet diese Wachstumsformen Übergang zur diffusen Verteilung der Bakterien im Nährboden.

Die erste Hauptform der Kolonie ist die bekannte, wie sie bei gewöhnlichen Verhältnissen in 10prozentiger Gelatine beobachtet wird. Bei starker Vergrösserung kann man oft deutlich erkennen, wie die Kultur von einer Bakterienreihe, welche die Richtung des Randes besitzt, scharf begrenzt wird.

Die unter 2 angegebene Form der Kolonie ist die von W. Rosenthal beobachtete. Die Kulturen zeigen ein ganz eigentümliches Aussehen. In ganz jungem Wachstumsalter und bei günstigen Temperaturverhältnissen besteht die Kolonie nur aus einem lockeren Fadenbündel, das in der Mitte lose zusammengeschnürt erscheint. Ein eigentlicher Ausgangspunkt der Koloniebildung ist in diesem Stadium des Wachstums kaum zu erkennen. (Fig. 1). Später, im allgemeinen 20 bis 36 Stunden nach der Aussaat, tritt eine eigentliche Hauptkolonie auf, die meist deutlich 2 Pole besitzt, aus denen in oft grosser Zahl längere und kürzere Bakterienfädchen in den Nährboden hineinreichen. (Fig. 2, 9 und 11). Diese Fädchen bestehen aus nur einer einzigen Bakterienreihe. Sie zeigen meist regelmässige, gerade und gewundene Formen (Fig. 2 und 9.), doch kommen auch Fädchen mit zahlreichen unregelmässigen Windungen vor. (Fig. 11.). Letztere erinnern an die Formen der Kulturen von *Bact. mycoides* und *Bact. Zopfii*. Sehr

häufig sieht man die auch von W. Rosenthal beobachteten Spiralen, oft eng gewunden, zuweilen aber auch in sehr weiten Windungen angelegt. Verzweigungen beobachtete ich nur bei geraden Fädchen und auch hier nur äusserst selten. (Fig. 1 und 2.). Sind die Temperaturverhältnisse für diese Wachstumsform der Bakterienkolonie besonders günstige gewesen, so gehen die Fädchen nicht allein von den beiden Polen der Kolonie aus, sondern von allen Seiten. (Fig. 3.). Es entstehen so die eigenartigsten Formen, die häufig an ein geisseltragendes Bakterium oder an eine Krätzmilbe erinnern.

Die Bildung der Fädchen ist keineswegs mit Ausschwärmen zu verwechseln. Es handelt sich lediglich um ein Auswachsen einzelner Bakterien zu Fädchen.

Bei Untersuchungen mit 480facher Vergrösserung konnte ich nie eine Bewegung der Bakterien wahrnehmen. Bei mehrstündiger Beobachtung ein und derselben Kolonie war es mir nur möglich, eine sehr geringe Verlängerung des Bakterienfadens zu konstatieren. Nach Verlauf je einer Stunde schien mir das Fadenende ungefähr um eine Bakterienlänge vorgerückt zu sein. Obgleich ich innerhalb des Fadens wohl die Trennung in einzelne Bakterien bei anhaltender genauer Beobachtung zeitweise erkennen konnte, vermochte ich jedoch nie bestimmt zu entscheiden, ob ein Bakterium und welches der Reihe sich geteilt hatte.

In seltenen Fällen fand ich an einer beliebigen Stelle eines geraden oder nur wenig gekrümmten Fadens ein einzelnes Bakterium angelagert; dieses stand entweder im spitzen Winkel zur Bakterienreihe, nach dem Ende zu stets weiter von dieser entfernt (Fig. 1) — hier fand jedenfalls ein Herausdrängen des Bakteriums statt, — oder aber es war in seiner ganzen Länge dem Faden angefügt. (Fig. 1.). War dies der Fall, so besass es stets die Länge des correspondierenden Bakteriums im Faden. Die angelagerten Bak-

terien, sowohl die schräg zur Bakterienreihe gestellten, als auch die mit dieser die gleiche Richtung zeigenden, vermehrten sich nun oft wieder in ihrer Längsrichtung. Im ersten Falle kam auf diese Weise eine Verzweigung des Fadens zu stande, im letzteren legte sich ein zweiter Bakterienfaden neben den ersten.

Wodurch das Vorschieben und Vorwachsen einzelner Bakterien der Kolonie zu Fäden bedingt wird, ist mit Sicherheit wohl nicht zu sagen, vielleicht sind es Individuen, die unter den günstigen Existenzbedingungen, die ihnen gegeben werden, eine besonders kräftige Lebensenergie besitzen.

Bei älteren Kulturen wachsen die Fädchen allmählich zu Zooglöen aus; es tritt nach den verschiedenen Richtungen hin eine Vermehrung der Bakterien ein. (Fig. 4 und 10.) Solche Zooglöabildung tritt nicht immer an einem Faden an allen Teilen auf, und es liegen dann scheinbar Zooglöen völlig von der Kultur getrennt. (Fig. 4). Bei starker Vergrößerung und genauem Verfolgen des Fadens erkennt man jedoch bald den Zusammenhang solcher Zooglöen mit der Kultur. Häufig gehen dann von den Zooglöen wiederum Fädchen aus, in derselben Weise, wie es im Anfangsstadium dieses Wachstums für die Kolonie selbst beschrieben wurde. In unmittelbarer Nähe der Kolonie dehnen sich die Zooglöen besonders weit aus und verschmelzen teilweise völlig mit dieser.

Während W. Rosenthal dieses Auswachsen der Bakterien nur bei tiefliegenden Kulturen wahrnahm, beobachtete ich genau die gleiche Fädchenbildung auch bei Oberflächenkolonien, wenngleich nicht so häufig wie bei den tiefliegenden Ansiedlungen. (Fig. 8 und 14.) Deutlich ausgeprägte Pole liessen sich freilich bei Kolonien der Oberfläche meist nicht erkennen.

Erfolgt das Vorwachsen der Bakterien zu Fädchen und die spätere Zooglöabildung in nur ganz geringem

Masse, so erhält man die gleichen Formen der Kolonie, wie sie schon von Baginsky und Heim früher beschrieben wurden.

Bei der dritten Hauptform der Bakterienkolonie handelt es sich nun um ein wirkliches Ausschwärmen, das dem von Hauser zuerst für *Proteus* erkannten Schwärmen nahe kommt. Kleine Bakterienkomplexe trennen sich völlig los von der Kolonie und wandern langsam weiter, indem sie stets ihre Stellung zur letzteren und unter einander ändern. Bei starker Vergrößerung (1:480) kann man deutlich erkennen, wie sich die Bakterien innerhalb eines solchen Verbandes bemühen, weiter fortzustreben. Das gemeinsame eifrige Vordringen der vorderen Bakterien einer solchen Zooglöa, sowie das stetige Hin- und Herschieben der nachfolgenden, scheinbar, um den Nährboden aufzulockern, boten einen höchst interessanten Anblick dar. Die Bewegung der Bakterienverbände war zwar nie auch nur annähernd so schnell, wie dieselbe bei *Proteus*arten beobachtet werden kann, wohl aber konnte man deutlich die Ortsbewegung verfolgen. Eine Regelmässigkeit in der Bewegung der Zooglöen war mir nicht möglich zu erkennen. Zufällig beobachtete ich einigemal, wie sich zwei Verbände einander näherten und dann vereinigten oder wiederum sich ein Teil der Bakterien unter ihrem eigenen Führer von einer Zooglöa abzweigte, aber für lange Zeit immer noch eine Verbindung mit dieser aufrecht erhielt. Die letztere Erscheinung schien häufiger stattzuhaben, denn nicht selten beobachtete ich sehr reich verzweigte Zooglöen, deren Entstehung nur auf diese Weise eine Erklärung finden kann. (Fig. 12).

Eine Kolonie, die ein derartiges Ausschwärmen zeigte, war weit verbreitet und nur in Petrischalen der vierten Verdünnung liess sich die Zusammengehörigkeit der verschiedenen Kolonien deutlich erkennen. Sehr häufig war es mir überhaupt nicht möglich, einen

Bakterienverband als Ausgangskultur zu bezeichnen. Es bestand dann die ganze Kolonie aus einem sehr lockeren Gefüge höchst zarter Zooglöen. Letztere waren nicht ganz selten teilweise aus nur einer Bakterienreihe zusammengesetzt, die dann an die Fädchen der zweiten Hauptform erinnerten, jedoch stets zum Unterschiede von diesen innerhalb der Kolonie getrennt lagen. Ausserdem unterschieden sich diese Fädchenzooglöen der dritten Hauptform dadurch wesentlich von den Fädchen der zweiten Hauptform, dass hier die einzelnen Bakterien fast nie in gleicher Richtung zu einem solchen Faden zusammengelagert waren, nie dicht aneinander gefügt erschienen und eine lebhaftere Beweglichkeit zeigten. Schon bei dieser Form der Kolonie ist man wohl berechtigt, einen Übergang zur diffusen Verteilung der Bakterien im Nährboden anzunehmen.

Als vierte Hauptform der Bakterienkolonien in den dünnen Gelatinen unterschied ich ein Ausschwärmen der einzelnen Bakterien nach allen Richtungen hin ohne eigentliche Zooglöabildung. (Fig. 6 und 13). Freilich kommen schon Zusammenlagerungen einzelner, weniger Bakterien vor, doch scheint es sich in solchen Fällen nur um einen Teilungsprozess zu handeln. Dieses Ausschwärmen zeigt absolut nichts Charakteristisches für die Kolonie und tritt meist ganz plötzlich für sämtliche Kolonien der Kultur auf. Eine jede Kolonie ist dann mit einem ganzen Hofe einzelner Bakterien umgeben und erscheint bei geringer Vergrösserung, wie auch schon makroskopisch, in einem Schleier eingehüllt. Die einzelnen Bakterien zeigen eine sehr lebhaftere Beweglichkeit. Auch in der Kolonie selbst schien eine stetige Bewegung der Bakterien stattzufinden. Auffallend ist es, dass sich die Bakterien zweier verschiedener Kulturen, die ziemlich nahe liegen, für lange Zeit nicht vermischen. Man kann eine deutliche Grenze zwischen den benachbarten Kulturen meist noch nach längerem Wachstum gut erkennen. (Fig. 6).

Auch dieses Ausschwärmen wurde von mir bei tiefliegenden, wie bei Oberflächenkulturen beobachtet. Bei letzteren traten die Bakterien häufig an gewissen Stellen in dichten Büscheln aus der Kolonie heraus, (Fig. 13), im übrigen aber war zwischen diesem Ausschwärmen einer tiefliegenden und einer Oberflächenkolonie kein Unterschied zu erkennen.

Es wird höchst wahrscheinlich diese Art des Ausschwärmens, wo es sich sicher um eine diffuse Verteilung der Bakterien handelt, dadurch bedingt, dass der Nährboden schon eine solche lockere Konsistenz angenommen hat, dass er mehr die Eigenschaft eines flüssigen Nährmediums besitzt, als die eines festen. Die Gelatine zeigte freilich äusserlich noch einen gewissen festen Zusammenhang, denn die Petrischalen konnten vorsichtig geneigt werden, ohne auszufließen. Bei geringem Schütteln der Schale jedoch wurde die feste Konsistenz der Nährgelatine völlig zerstört.

Die vier Hauptformen der Bakterienkolonien treten bei den einzelnen Bakterien in 2,5 bis 5prozentiger Gelatine bei verschiedenen Temperaturgraden ein. Letztere lassen sich allerdings nur ungefähr angeben, eine scharfe Temperaturgrenze zwischen den vier Hauptformen der Kolonie konnte ich nicht konstatieren. Es hat dies jedenfalls darin seinen Grund, dass es ausser der Temperatur und dem niedrigen Prozentgehalt des Nährbodens an Gelatine noch andere Momente giebt, die auf das Wachstum der Kolonie einwirken. So ist es gewiss ein Unterschied, ob der Plattenguss von einer älteren oder einer jüngeren Agarkultur angelegt wird. Die Bakterien einer älteren Kultur müssen sich zunächst wieder kräftigen, bevor sie das charakteristische Wachstum zeigen. Auch die Dichte der Aussaat hat, wie schon oben erwähnt, einen Einfluss auf das Wachstum der einzelnen Bakterienkolonie. Ist z. B. die Temperatur von Anfang an so hoch, dass ein Vorschieben der ein-

zelenen Bakterien in Fäden stattfindet, so ist diese Form des Wachstums sehr stark ausgeprägt bei jeder einzelnen Kultur, gleichgiltig, ob die Kolonien dicht oder weniger dicht liegen. Wächst dagegen eine dichte Kultur anfangs bei niedriger Temperatur und dann bei der höheren, so tritt ein Auswachsen in Fädchen nur sehr spärlich oder auch gar nicht mehr ein, während Kolonien der Platte, auf der die Kultur nicht eine so grosse Dichte zeigt, auch ein ganz charakteristisches Ausschwärmen in Fädchen erkennen lassen. Im ersteren Falle sind die Nährstoffe bereits bei Eintritt der günstigen Temperaturverhältnisse verzehrt, und das Wachstum der einzelnen Kolonie ist sistiert. Dasselbe gilt auch für beide Arten des Ausschwärmens. Sicher giebt es noch weitere Einflüsse auf das Wachstum der Kultur, die sich jedoch der Beobachtung entziehen. Anzunehmen ist, dass z. B. das rasche oder langsamere Erstarren des ausgegossenen, geimpften Nährbodens einen gewissen Einfluss auf die Form der einzelnen Kolonie hat.

Im allgemeinen zeigten die Bakterienkolonien in den verdünnten Gelatinen:

bis zu 18° C. die erste, von 17 bis 21° C. die zweite, von 19 bis 22° C. die dritte und über 21 bzw. 22° C. die vierte Hauptform.

Wächst eine Kultur bei Temperaturgraden, die für verschiedene Hauptformen angegeben sind, so treten alle die betreffenden Wachstumsformen nach einander ein. Eine Kultur des *Bact. typhi abdominalis* I in 2,5 prozentiger Gelatine, die anfangs mehrere Stunden bei 20 bis 22,5° C. und später bei 18 bis 19° C. gewachsen war, zeigte ein ganz eigenartiges Bild, das nur durch die Vereinigung der vierten und zweiten Hauptform des Wachstums hervorgerufen wurde. (Fig. 7). Man sieht eine etwas grössere Mutterkolonie umgeben von zahlreichen Tochterkolonien. Alle diese Kolonien zeigen ein Auswachsen der Bakterien in Fäden. Ist der

Unterschied der Temperatur bei plötzlichem Wechsel ein sehr grosser, so kommt es vor, dass sich auch die erste und vierte Hauptform vereinigen. Ich beobachtete bei einer Kultur von *Bact. coli comm. II*, die etwa 2 Tage bei 14 bis 17° C. gewachsen war und weder Auswachsen in Fäden noch ein Ausschwärmen zeigte, als die Temperatur schnell bis zu 22° C. und höher stieg, wie von sämtlichen Kolonien der Oberfläche und der Tiefe die Bakterien einzeln oder zu nur wenigen vereint nach allen Richtungen hin ausschwärmten. Innerhalb zwei Stunden erschienen die Oberflächenkolonien makroskopisch wie von einer Franse umgeben. Bei starker Vergrösserung zeigten die verhältnismässig grossen und kräftigen Bakterien eine sehr lebhaftes Eigenbewegung. Auch Kulturen, bei denen sich verschiedene andere Hauptformen des Wachstums der Bakterienkolonie nach einander vereinigten, beobachtete ich (z. B. Fig. 5). Hier war die Erklärung der Erscheinungen eine ebenso einfache wie bei den beiden erwähnten Fällen. Es zeigten die übrigen Kulturen aber nicht so interessante Bilder, und gehe ich daher auf sie nicht weiter ein.

Durch die gleichzeitige Besichtigung meiner zahlreichen fixierten Platten, vereint mit den Erfahrungen, die ich bei der Beobachtung der lebenden Kolonie gemacht hatte, war es nun möglich, das Wachstum der einzelnen von mir untersuchten Bakterien in verdünnten Gelatinen genau zu vergleichen und Schlüsse zu ziehen betreffs der eventuellen praktischen Anwendung solcher Kulturen für die Differentialdiagnose zwischen *Bact. typhi abdominalis* und *Bact. coli comm.*

Sämtliche von mir untersuchten Bakterien zeigten bei den betreffenden Temperaturen die erste, zweite und vierte der oben beschriebenen Hauptformen der Kolonie. Die dritte Hauptform beobachtete ich jedoch nur allein bei *Bact. coli comm. II*. Letzteres bildete

auch häufig Übergangsformen von der zweiten zur dritten und von der dritten zur vierten Hauptform. Wie hieraus hervorgeht, verhielt sich das *Bact. coli comm. II* von den übrigen Colibakterien recht verschieden. Ein Auswachsen der Kolonie in Fädchen fand bei *Bact. coli comm. II* auch schon bei 17° C. statt und bei 19 bis 20° C. (zuweilen auch schon bei 18° C.) ging diese Form der Kolonie in die dritte Hauptform über. Meist war jedoch bei 18° bis 19° C. auch bei diesem Bakterium das charakteristische Wachstum der zweiten Hauptform vorhanden.

Die erste und vierte Hauptform der Kolonie zeigten bei allen Bakterien keine Verschiedenheiten und so blieb der Vergleich der Bakterienkolonien der zweiten Hauptform als einziger zurück. Am meisten charakteristisch erschienen mir Kulturen, die 24 bis 36 Stunden bei einer Temperatur von 18 bis 19° C. gewachsen waren. (Fig. 2, 3 und 9.) Es waren dann die einzelnen Bakterienfädchen deutlich sichtbar und ein Auswachsen der Fädchen zu Zoogloen war in diesem Alter der Kultur noch nicht eingetreten.

Schon bei dem ersten Vergleiche solcher Kolonien der beiden Bakterienarten erkennt man, dass in der Form der Fädchen bei keinem einzigen Bakterium ein Unterschied vorhanden ist. Neben geraden Fädchen bildeten sämtliche von mir untersuchten Bakterienarten, sowohl *Bact. typhi abdominal* sowie *Bact. coli comm.*, die regelmässigen Spiralen, wie diese schon von W. Rosenthal bei Typhuskolonien beobachtet wurden. Es ist demnach ein Unterschied zwischen beiden Bakterienarten, wie ihn W. Rosenthal in der Bildung bzw. Nichtbildung der Spiralen vermutete, nicht vorhanden.

Bei Typhuskolonien kommt die Spiralenbildung jedoch häufiger vor, als bei Kolonien des *Bact. coli comm.* Von einer einzigen Typhuskolonie gehen oft 1 bis 5

Spiralen aus, die Colikolonien zeigen dagegen meist nur 1 bis zwei, auch drei Spiralen. Doch ist anzunehmen, dass diese Zahlen nicht für alle Untersuchungen die gleichen sein werden, und es lässt sich daher auch die Anzahl der Spiralen einer Kolonie für die Differenzierung der beiden Bakterienarten nicht verwerten.

Den einzigen Unterschied, den ich bei den Bakterienkulturen in verdünnter Gelatine wahrnehmen konnte, lag in der Grösse der Kultur und in der grösseren oder geringeren Anzahl der von einer Kolonie ausgehenden Bakterienfädchen. Die Typhuskolonien waren in den bei weitem meisten Fällen nach 24stündigem Wachstum kaum sichtbar; sie bestanden nur aus einer Zusammenlagerung weniger Bakterien. Die Kulturen des *Bact. coli comm.* hingegen liessen zu dieser Zeit schon gut charakterisierte, rundliche oder etwas längliche Kolonien erkennen, von denen meist nur einige wenige Fädchen ausgingen. Nach einer Wachstumsdauer von 24 bis 36 Stunden zeigten dann die Typhuskulturen kleine Kolonien mit zahlreichen, weit in die Gelatine reichenden Fädchen (Fig. 2 und 3). Die Kolonien des *Bact. coli comm.* aber waren nach dieser Zeit in ihrem Wachstum ohne weitere Gestaltveränderung noch weiter fortgeschritten. Sie waren oft etwa 5 bis 10 mal so gross als die Typhuskolonien desselben Alters und zeigten in den allermeisten Fällen auch weniger Fädchen als die letzteren. (Fig. 9).

Auf den ersten Blick erkennt man, dass es zwei längst bekannte Unterschiede sind, die sich in dieser Bildung der Kolonie vereinigen:

1. Verschiedenheit in der Schnelligkeit der Bewegung und
2. Verschiedenheit in der Wachstumsenergie beider Bakterien.

Beide Unterschiede sind schon in dem ersten Teile meiner Arbeit behandelt worden. — Die Schnelligkeit

der Bewegung variiert bei dem *Bact. coli comm.* sehr, und das schnellere Wachstum der Colikolonie kann durch Faktoren verändert werden, die bei unseren Beobachtungen möglicherweise übersehen werden können. So wäre es nicht auffallend, wenn eine ältere Stammkultur von *Bact. coli comm.*, deren einzelne Bakterien weniger Lebensenergie besitzen, sowie eine frisch gezüchtete Typhuskultur ein gleich schnelles Wachstum zeigten. Auch können die Wachstumsbedingungen des Nährbodens zufällig bei dem *Bact. coli comm.* schlechtere sein als bei dem *Typusbacillus*; hier wäre eventuell dann ebenfalls die Grösse der einzelnen Kolonie bei korrespondierendem Wachstumsalter bei beiden Bakterienarten die gleiche.

Aus denselben Gründen, wie die Unterschiede in der Bewegung und der Grösse der Kolonie nicht zur Differentialdiagnose allein Verwertung finden dürfen, kann auch der von W. Rosenthal und mir beobachtete Unterschied in der Form der Kolonie beim Wachstum in verdünnten Gelatinen nicht als sicherer Unterschied angesehen werden.

In der That zeigte es sich bei meinen Untersuchungen, dass einzelne Kolonien des *Bact. coli comm.* oft nicht von den Typhuskolonien zu unterscheiden waren; immerhin bewahrte zwar die ganze Kultur des Bakteriums in fast allen Fällen den für die Art eigenen Charakter. Nur wenige Kulturen des *Bact. coli comm.* II zeigten fast die gleichen Bilder wie Typhuskulturen. Die letzte Erscheinung lässt aber gerade bei der grossen Variabilität des *Bact. coli comm.* vermuten, dass es noch andere Varietäten dieses Bakteriums giebt, deren Kulturen in verdünnten Gelatinen von solchen des *Typhusbacillus* überhaupt nicht mehr zu unterscheiden sind.

Bei einer längeren Wachstumsdauer, etwa nach Verlauf von 3 oder mehr Tagen, verschwinden die von

mir beobachteten Unterschiede mehr oder weniger. Es tritt an den Fädchen, besonders in der Nähe der Kolonie Zoogläabildung ein, und es entstehen Kolonieförmigkeiten, die meistens nur wenig Charakteristisches der Art erkennen lassen.

Bei Stichkulturen, die ich in verdünnten Gelatinen anlegte, traten keine neue Erscheinungen auf. Da hier die mikroskopische Untersuchung wegfiel, so konnte man nur die Wachstumsform erkennen, die makroskopisch wahrnehmbar ist, die der vierten Hauptform. Die Stichkulturen hatten bei einem Wachstum von 20° C. und mehr ein Aussehen, das an die Kulturen von *Bact. mycoides* erinnerte, nur dass hier bei dem Typhus- und Colibakterium keine Verflüssigung des Nährbodens eintrat. Ein Unterschied war zwischen solchen Stichkulturen des *Bact. typhi abdominal.* und *Bact. coli comm.* gerade so wenig vorhanden, wie bei der vierten Hauptform der Kolonie im Plattenguss.

Die Resultate meiner Arbeit lassen sich in Folgendem kurz zusammenfassen:

I. Bei höherer Temperatur kommen in Typhus- und Colikulturen 10prozentiger Gelatine zuweilen abweichende Formen der Bakterienkolonie vor. Letztere treten bei niedrigerer Temperatur in verdünnten Gelatinen deutlicher zu Tage und können in solchen Nährböden genau untersucht werden.

II. Die Veränderung der Kultur kann dreifacher Art sein, je nachdem die Temperatur eine höhere oder niedrigere ist. Es sind demnach vier Hauptwachstumsformen der Bakterienkolonie in verdünnten Gelatinen zu beobachten, zwischen denen natürlich Übergänge vorkommen:

1. Kolonie mit völlig glattem Rande;
2. Kolonie, von deren Rande ausgewachsene Bakterienfädchen ausgehen;
3. Kolonien, aus denen kleine Bakterienverbände auswandern;
4. Kolonien, die völlig in Auflösung begriffen sind, aus welchen die Bakterien einzeln auschwärmen.

Diese vier Wachstumsformen gelten nicht allein für tiefliegende Kolonien, sondern auch für Kolonien der Oberfläche.

III. Ein Unterschied zwischen den Kolonien beider Bakterien bezüglich der Bildung beziehungsweise Nichtbildung von Spiralen bei der Züchtung in verdünnten Gelatinen ist nicht vorhanden. Sowohl die Kolonien des *Bact. typhi abdominal.*, als auch diejenigen des *Bact. coli comm.* zeigen bei geeigneten Lebensbedingungen Spiralenbildung.

IV. Ein gradueller Unterschied zwischen den Kulturen des *Bact. typhi abdominal.* und des *Bact. coli comm.* lässt sich nur insofern erkennen, als derselbe durch die Grösse der Kolonie und durch die Anzahl der von derselben ausgehenden Fädchen bedingt wird: Die Kolonie des *Bact. coli comm.* ist im allgemeinen grösser als die gleichaltrige Typhuskolonie, bildet aber nicht so zahlreiche Fädchen. Dieser Unterschied lässt sich am besten nach einem Wachstum von 24 bis 36 Stunden in 3,3 prozentiger Gelatine bei einer Temperatur 18 bis 19° C. beobachten.

Es ist dieses Verfahren jedoch nicht zur Differentialdiagnose zu empfehlen, da Übergänge von der einen Form zur anderen bei beiden Bakterien beobachtet sind und es vermutlich Fälle giebt, wo sich die Kulturen überhaupt nicht unterscheiden.

Zum Schluss meiner Arbeit sei es mir nochmals gestattet, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. phil. et med. Hauser, für die Anregung zu dieser Arbeit, die liebenswürdige Unterstützung und das lebhafteste Interesse meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen.



Tafel I.

Tyhuskolonien.

Fig. 1—8.

	Alter: 22 Stunden.	—	Prozentgehalt der Gelatine: 3,3%	—	Temp.: 19—21° C.	—	Verdünnung: III.
Fig. 1.	"	28	"	5%	"	20—21° C.	III.
Fig. 2.	"	36	"	3,3%	"	18—20° C.	III.
Fig. 3.	"	10 Tage	"	5%	"	17—21° C.	III.
Fig. 4.	"	3	"	3,3%	"	17—22° C.	III.
Fig. 5.	"	45 Stunden	"	5%	"	19—23° C.	III.
Fig. 6.	"	42	"	2,5%	"	18—22,5° C.	IV.
Fig. 7.	"	3 Tage	"	3,3%	"	16—20° C.	III.
Fig. 8.	"		"				



Tafel II.

Colikolonien.

Fig. 9—14.

Fig.	Alter: 24 Stunden.	—	Prozentgehalt der Gelatine: 3,3 ^o / ₁₀ .	Temp.: 18—20° C.	—	Verdünnung: III.
Fig. 10.	"	48	"	"	17—20,5° C.	" III.
Fig. 11.	"	42	"	"	17—19° C.	" III.
Fig. 12.	"	24	"	"	18—20° C.	" IV.
Fig. 13.	"	3 Tage	"	"	14—22° C.	" IV.
Fig. 14.	"	4	"	"	16—19° C.	" III.

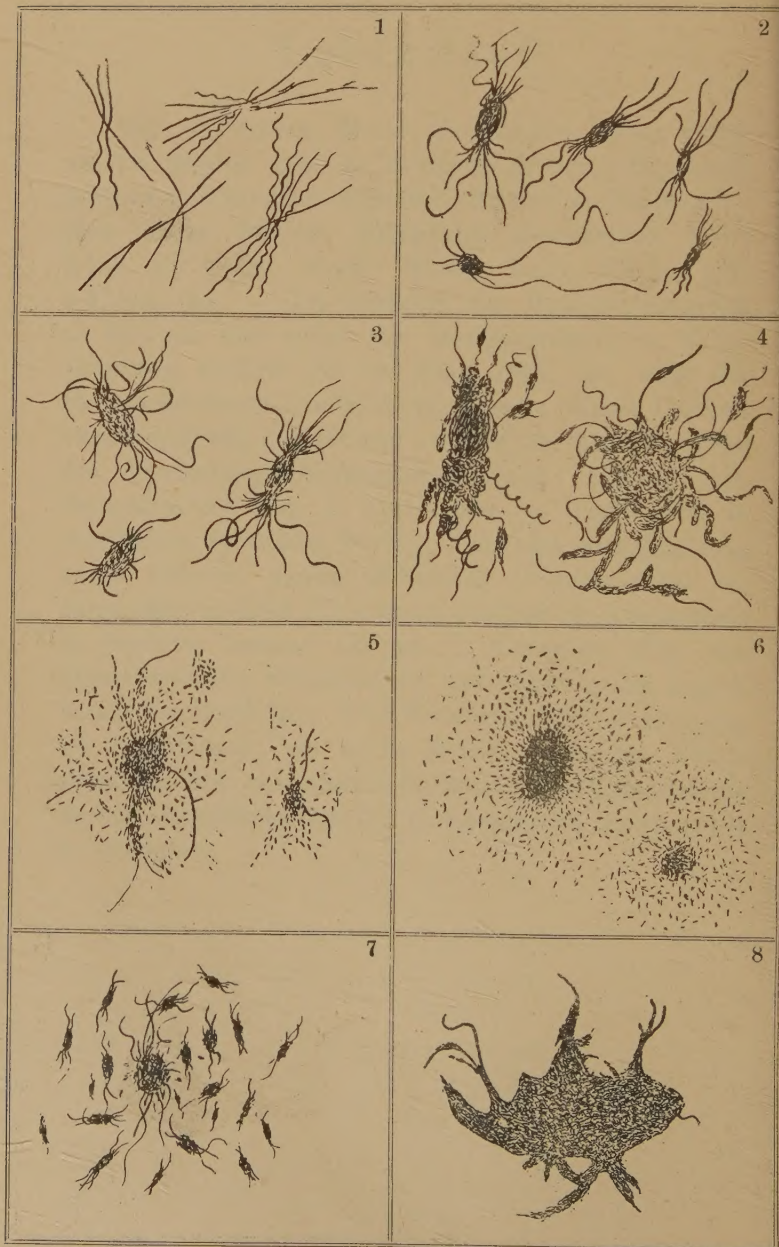
Lebenslauf.

Ich, Wilhelm, Emil, Johannes Klie, wurde am 17. October 1869 zu Bevensen (Provinz Hannover) geboren und bekenne mich zum lutherischen Glauben. — Mein Vater ist der Königliche Domänenrat Emil Klie zu Celle, meine Mutter Lulu Klie, geb. Suffenplan. — Ich besuchte das Realprogymnasium zu Einbeck und später das Realgymnasium zu Celle. Letzteres verliess ich im März 1887, um mich der pharmazeutischen Laufbahn zu widmen. Meine Lehrzeit absolvierte ich in Hannover, wo ich am 21. März 1890 das Apothekergehilfenexamen bestand. Darauf konditionierte ich vom 1. April 1890 bis dahin 1893 in Apotheken der Städte Berlin, Wiesbaden und Hamburg, sowie während meiner Militärzeit (October 1891 bis dahin 1892) in Celle. Nach einem Studium von 3 Semestern in Marburg bestand ich am 1. November 1894 das pharmazeutische Staatsexamen und erhielt meine Approbation als Apotheker. Vom November 1894 ab studierte ich in Erlangen, um meine Kenntnisse in den Naturwissenschaften, besonders in der Botanik und Bakteriologie zu vervollständigen und die philosophische Doktorwürde zu erwerben.

Tafel I.

Typhuskolonien

Fig. 1—8.



Tafel II.

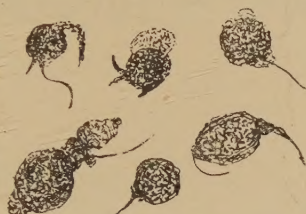
Colikolonien

Fig. 9—14.

9



10



11



12



13



14



